

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



На правах рукописи

**РОЛЬ ИОННЫХ НАТРИЕВЫХ КАНАЛОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ  
ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ**

3.3.3. Патологическая физиология (медицинские науки)

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

Заслуженный работник высшей школы РФ,

доктор медицинских наук, профессор

Витковский Юрий Антонович

ЧИТА – 2025

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	4
<b>ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	<b>11</b>
1.1 Натриевые ионные каналы и их классификация .....	11
1.2 Общие сведения о строении потенциал-управляемых натриевых ионных каналов .....	16
1.3 Общие сведения о строении эпителиальных натриевых каналов .....	25
1.4 Общие сведения о генетических однонуклеотидных вариантах белковых субъединиц натриевых каналов и их роль в патофизиологии заболеваний.....	34
1.4.1 Роль эпителиальных натриевых каналов (ENaC) в патофизиологии различных заболеваний .....	35
1.4.2 Роль потенциал-зависимых натриевых каналов (Na <sub>v</sub> ) в патофизиологии различных заболеваний .....	39
1.5 Мембранная теория как основа артериальной гипертензии .....	42
<b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b> .....	<b>50</b>
2.1 Общая схема исследования.....	50
2.1.1 Клиническая характеристика больных артериальной гипертензией .....	52
2.1.2 Сравнительная характеристика групп здоровых и больных артериальной гипертензией .....	54
2.2 Методы исследования.....	56
2.2.1 Общее клиническое обследование.....	56
2.2.2 Молекулярно-генетический метод исследования .....	56
2.2.3 Проточная цитометрия и определение содержания Na <sup>+</sup> в клетках .....	58
2.3 Инструментальный метод исследования.....	60
2.4 Методика анализа результатов исследования.....	60
2.5 Методы статистической обработки полученных результатов.....	61
<b>ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ</b> .....	<b>63</b>

3.1 Оценка функции натриевых ионных каналов в соответствии с внутриклеточным содержанием ионов натрия у пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией и здоровых лиц.....	63
3.2 Анализ встречаемости SNV генов натриевых каналов в популяции Забайкальского края.....	69
3.2.1 Вариант гена SCNN1A (rs11064153) у пациентов с артериальной гипертензией и здоровых людей.....	71
3.2.2 Вариант гена SCNN1G (rs4401050) у пациентов с артериальной гипертензией и здоровых людей.....	73
3.2.3 Вариант гена SCN7A (rs7565062) у пациентов с артериальной гипертензией и у здоровых людей.....	76
3.3 Ассоциация генотипов SNV rs11064153 (SCNN1A), rs4401050 (SCNN1G) и rs7565062 (SCN7A) и исходных характеристик группы контроля и пациентов с гипертензией .....	78
3.4 Ассоциации генотипов однонуклеотидных вариантов генов- кандидатов (rs11064153) SCNN1A, (rs4401050) SCNN1G и (rs7565062) SCN7A с эссенциальной артериальной гипертензией в рамках возрастных групп .....	89
3.5 Модель прогнозирования развития артериальной гипертензии .....	99
<b>ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....</b>	<b>106</b>
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....</b>	<b>119</b>
<b>ВЫВОДЫ.....</b>	<b>121</b>
<b>ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....</b>	<b>122</b>
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....</b>	<b>123</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....</b>	<b>124</b>

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Ионные натриевые каналы играют основополагающую роль в регуляции сосудистого тонуса. Дисфункция этих каналов может привести к структурно-функциональному ремоделированию сосудистой стенки, связанному с изменением сосудистой ауторегуляции [145].

Генетически детерминированная дисфункция белковых субъединиц ионных натриевых каналов вызывает многочисленные заболевания, входящие в группу каналопатий [45, 54, 68, 106, 135, 142, 145, 159, 255]. В настоящее время не существует единого мнения о механизмах развития каналопатий, поэтому поиск причин дисфункции натриевых каналов необходим для разработки эффективных персонализированных стратегий постановки молекулярного диагноза и лечения пациентов [38, 116, 145]. Под термином «натриевые каналопатии» в данном исследовании понимается, в след за R. Lemmens-Gruber и J.R. Groome, изменение функционирования каналов, ассоциированное с генетическими вариантами натриевых каналов.

Актуальным является понимание того, что изменения ионных механизмов биоэлектрических процессов сосудов лежат в основе формирования устойчивого повышения артериального давления (АД) [156] и принимают участие 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. Следовательно, необходимо углубленное изучение патофизиологических механизмов эссенциальной артериальной гипертензии (ЭГ) для выявления более эффективных путей регулирования АД [89]

в связи с тем, что целевой уровень АД остается низким: менее одной пятой пациентов достигают стабильного целевого уровня АД [182, 201].

В настоящее время принято считать, что артериальная гипертензия (АГ) в большинстве случаев имеет мультигенную основу, хотя и существует несколько редких отдельных категорий моногенных форм [86, 103, 186]. Наряду с этим, генетическая основа ЭГ до сих пор не раскрыта [160, 201], множество генов влияют на фенотип АД посредством аллельных эффектов отдельных генов и межгенных взаимодействий [103, 186]. Генетическая архитектура ЭГ состоит из ряда однонуклеотидных вариантов генов (SNV, single nucleotide variant), обладающих небольшим, но кумулятивным эффектом. Несмотря на то, что сегодня активно накапливаются сведения о различных генетических предикторах многих сердечно-сосудистых заболеваний [17], информация о них при ЭГ ограничена [99, 107, 160, 220]. Вопрос о патогенетическом влиянии SNV генов натриевых каналов на развитие ЭГ до сих пор остаётся открытым [198]. Выбранные для рассмотрения гены натриевых каналов сегодня еще изучаются, научных работ по данной теме очень мало, что, на наш взгляд, подтверждает актуальность настоящего исследования, в научной литературе не рассматривалось участие SNV генов натриевых каналов в патогенезе ЭГ у жителей Забайкальского края.

Таким образом, исследование роли натриевых каналов в патогенезе ЭГ может углубить понимание особенностей течения заболевания, дать оценку вероятности развития заболевания, тем самым, возможно, снизить риск опасных для жизни сердечно-сосудистых осложнений, а также обосновать новые подходы к разработке методов персонализированной диагностики и терапии ЭГ.

### **Степень разработанности темы исследования**

В последнее десятилетие многочисленными исследованиями выявлено более 200 миссенс-мутаций, которые влияют на работу различных видов ионных натриевых каналов и вызывают каналопатии. В настоящее время ведется активный

поиск генов-кандидатов, ассоциированных с развитием АГ. Первые доказательства того, что однонуклеотидные варианты генов эпителиальных натриевых каналов были связаны с изменениями АД, что отражено в исследовании GenSalt (2014) [42]. Существенный вклад в изучение генетического полиморфизма молекул-участников механизма развития АГ внесли S. Padmanabhan (2018), J. Burrello (2017), Wang (2015), P. Xu (2022) [96, 98, 136, 149]. Например, наиболее важными представляются варианты генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС): ген ренина (REN), ген ангиотензиногена (AGT), ген ангиотензинпревращающего фермента (ACE), ген рецептора ангиотензина II 1-го типа (AGTR 1); гены, определяющие состояние эндотелия сосудов: ген эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS 3), ген эндотелина-1 (EDN 1) и другие. Изучена роль генетического полиморфизма некоторых молекул-участников механизма развития АГ, включая ионные кальциевые каналы [16, 103]. Однако роль SNV генов натриевых каналов в развитии АГ на территории Российской Федерации не изучена.

В связи с вышеизложенным, актуальным является изучение связи однонуклеотидных вариантов генов натриевых каналов и их функции с АГ, что позволит углубить понимание патогенеза АГ, выявить предикторы развития АГ среди жителей Забайкальского края.

### **Цель исследования**

Выявить молекулярно-генетические механизмы развития натриевых каналопатий в патогенезе эссенциальной артериальной гипертензии.

### **Задачи исследования**

1. Оценить функцию натриевых ионных каналов с учетом параметров внутриклеточного содержания ионов натрия и вклад в развитие эссенциальной артериальной гипертензии.

2. Изучить частоту встречаемости генотипов и аллельных вариантов генов натриевых каналов SCNN1A (rs11064153), SCNN1G (rs4401050), SCN7A (rs7565062) у больных эссенциальной артериальной гипертензией.

3. Выявить влияние различных генотипов однонуклеотидного варианта rs11064153 гена SCNN1A на изменение внутриклеточного содержания ионов натрия у здоровых и у больных эссенциальной артериальной гипертензией.

4. Установить патогенетически значимые критерии прогноза развития эссенциальной артериальной гипертензии.

### **Научная новизна**

Впервые обнаружено различие внутриклеточного содержания ионов натрия у пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией и здоровых людей в зависимости от генетических вариантов натриевых каналов SCNN1A (rs11064153), SCNN1G (rs4401050) и SCN7A (rs7565062), ассоциированных с развитием натриевой каналопатии.

Впервые определена частота генотипов и аллельных однонуклеотидных вариантов генов SCNN1A (rs11064153), SCNN1G (rs4401050), SCN7A (rs7565062) натриевых каналов у жителей Забайкальского края.

Впервые установлено, что носительство аллели Т и генотипа *TT* SNV rs11064153 гена SCNN1A; аллели С и генотипа *CC* варианта rs4401050 гена SCNN1G эпителиальных натриевых каналов; а также присутствие аллели Т и генотипа *TT* SNV гена SCN7A (rs7565062) потенциал-управляемых натриевых каналов повышают вероятность развития эссенциальной артериальной гипертензии.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

В результате проведенного исследования получены данные о распространённости аллельных вариантов генов натриевых каналов SCNN1A

(rs11064153), SCNN1G (rs4401050) и SCN7A (rs7565062) среди больных эссенциальной артериальной гипертензией и здоровых людей на территории Забайкальского края.

С целью оценки риска развития артериальной гипертензии при подозрении на маскированную гипертензию, характеризующуюся как плохо диагностируемое, латентно протекающее клиническое состояние, предрасполагающее к субклиническому поражению органов-мишеней и увеличению риска сердечно-сосудистых осложнений могут быть использованы однонуклеотидные варианты rs11064153 гена SCNN1A; SNV rs4401050 гена SCNN1G и SNV rs7565062 гена SCN7A.

Сведения о наличии однонуклеотидных вариантов rs11064153 (SCNN1A), rs4401050 (SCNN1G), rs7565062 (SCN7A) изученных генов могут быть включены в генетический паспорт индивидуумов для постановки молекулярного диагноза и генетического консультирования и могут послужить основой для разработки новых подходов скрининга, диагностики и лечения артериальной гипертензии.

Разработанная прогностическая модель развития артериальной гипертензии на основе молекулярно-генетических предикторов позволит с высокой вероятностью прогнозировать развитие артериальной гипертензии, совершенствовать диагностические и терапевтические стратегии контроля артериального давления, тем самым снизить риск развития сердечно-сосудистых заболеваний.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Изменение внутриклеточного содержания ионов натрия ассоциировано с генетическими вариантами натриевых каналов SCNN1A (rs11064153), SCNN1G (rs4401050) и SCN7A (rs7565062), которые способствуют развитию натриевой каналопатии, принимая участие в патогенезе эссенциальной артериальной гипертензии.



2. Прогностически значимыми критериями развития артериальной гипертензии являются однонуклеотидные варианты rs11064153 гена SCNN1A, rs4401050 гена SCNN1G и rs7565062 гена SCN7A натриевых каналов, а также уровень средней интенсивности флуоресценции ионов натрия в нейтрофилах низкой плотности.

### **Внедрение результатов исследования**

Результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России и входят в материалы лекций и практических занятий на кафедрах нормальной физиологии имени профессора Б.И. Кузника и патологической физиологии.

### **Достоверность результатов работы**

Диссертация выполнена в соответствии с планом научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (номер государственной регистрации РК 030(07) номер АААА-А16-116063010013-3) и одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ЧГМА Минздрава России (протокол № 92 от 29.10.2018г.). Автором сформулирована идея и гипотеза исследования, выполнен анализ отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме. Определена цель, задачи и разработан дизайн работы. Достоверность полученных результатов исследования обусловлена использованием современных статистических методов, достаточным объемом подбора когорты больных.

## **Апробация работы**

Основные результаты исследования представлены на IX международном Молодежном Медицинском Конгрессе «Санкт-Петербургские научные чтения-2022» (Санкт-Петербург, 2022); на XXIV съезде физиологического общества им. И. П. Павлова с докладом в постерной секции «Регуляция кровообращения: системные и молекулярные механизмы» (Санкт-Петербург, 2023).

## **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 7 печатных работ, из них 4 в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных изданий ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертации на соискание ученой степени кандидата наук, в т.ч. 1 статья в журнале, входящем в международную реферативную базу данных и систем цитирования Scopus, получено 1 авторское свидетельство о государственной регистрации базы данных.

## **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 154 страницах машинописного текста и состоит из общей характеристики работы, обзора литературы по исследуемой теме – глава 1, описания методики – глава 2, описания результатов исследования – глава 3, обсуждения – глава 4, выводов и списка литературы, который включает 256 источников (из них 237 иностранных). Работа иллюстрирована 25 рисунками и 27 таблицами.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Натриевые ионные каналы и их классификация

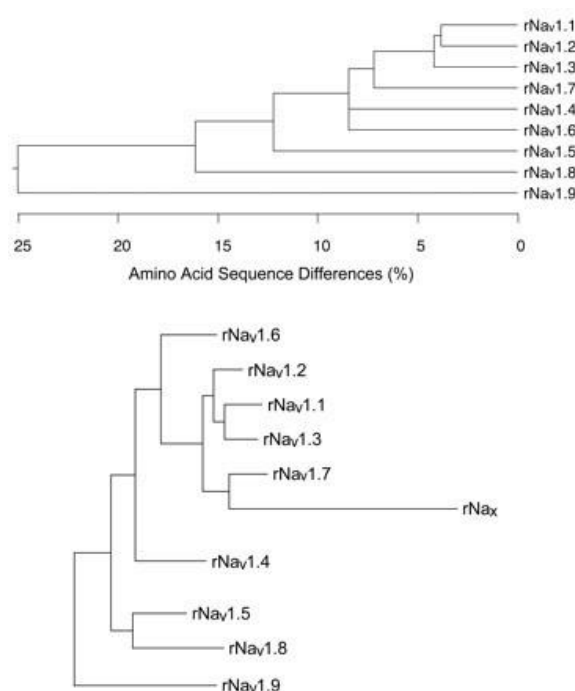
Натриевый канал представляет собой селективный ионный канал, образованный интегральными мембранными белками, позволяющий ионам натрия ( $\text{Na}^+$ ) проходить через клеточную мембрану.

Эра исследований электрических сигналов в нервных, мышечных и других возбудимых клетках началась в 1952 году с публикации серии оригинальных основополагающих работ А.Л. Hodgkin, А.Ф. Huxley об анализе потенциала действия аксона гигантского кальмара [128]. Их работа показала, что электрические сигналы в нервах инициируются зависимой от напряжения активацией тока натрия, который несет  $\text{Na}^+$  внутрь. Затем ток натрия инактивируется в течение 1-2 мс, и электрическая сигнализация прекращается путем активации тока калия, управляемого напряжением, который несет  $\text{K}^+$  наружу и восстанавливает первоначальный баланс электрических зарядов через мембрану. Их исследование впервые выявило ток натрия, управляемый напряжением, и определило начало исследования этого ключевого механизма электрической сигнализации.

По функциональному признаку принято выделять два основных класса натриевых каналов: семейство потенциал-управляемых натриевых каналов («*Na<sub>v</sub>, voltage gate channels*») и эпителиальные натриевые каналы («*ENaC, epithelial sodium channel*») [6, 74, 121]. Общий термин «натриевые каналы» чаще всего относится к потенциал-управляемым натриевым каналам из-за их ведущей роли в распространении потенциала действия (ПД).

## Классификация $Na_v$ .

Семейство  $Na_v$ -каналов принадлежит к суперсемейству потенциал-управляемых катионных каналов с меньшим количеством внутрисемейных вариаций по сравнению с двумя другими семействами потенциал-зависимых калиевых каналы ( $K_v$ ) и потенциал-управляемых кальциевых каналов ( $Ca_v$ ). Классификация  $Na_v$ -каналов, которую можно представить в виде филогенетического дерева, выведена на основании сходства аминокислотных последовательностей их  $\alpha$ -субъединиц (рисунок 1).



**Рисунок 1.** Филогенетическая классификация  $Na_v$ -каналов [66]

В указанной классификации выделяют два подсемейства  $Na_v$ :  $Na_v1$  и  $Na_x$  ( $Na_x$  – также обозначаются как  $Na_v2$  или  $Na_G$ ). При этом подсемейство  $Na_x$  не обладает ионной проницаемостью, так как считается, что, несмотря на отнесенность  $Na_x$  к семейству  $Na_v$ , представители данного подсемейства не обладают чувствительностью к изменению мембранного потенциала. Вместо этого, предполагается, что  $Na_x$  функционируют как датчики концентрации внеклеточного иона  $Na^+$ , следовательно, они открываются в ответ на повышение внеклеточной концентрации ионов натрия [81]. Таким образом, считается, что в организме млекопитающих  $Na_x$ -каналы играют основную роль в ионном гомеостазе.

В подсемействе  $Na_v1$  выделяют 9 изоформ каналов (от  $Na_v1.1$  до  $Na_v1.9$ ), последовательности которых схожи и содержат более 50% идентичных аминокислотных остатков (а.о.), экспрессия различных изоформ регулируется в процессе онтогенеза и является клеточно- и тканеспецифичной [67].

Семейство  $Na_v$  можно дополнительно разделить в зависимости от их чувствительности (S) или устойчивости (R) к тетродотоксину (ТТХ). Например, каналы ТТХ-S,  $Na_v1.1$ – $Na_v1.7$  блокируются 500 нМ–1 мкМ ТТХ, тогда как  $Na_v1.8$  и  $Na_v1.9$  устойчивы к этому токсину. Каналы ТТХ-S имеют очень быструю кинетику, демонстрируя быструю инактивацию, которая обычно происходит в течение 5–10 мс.  $Na_v1.8$  и  $Na_v1.9$  имеют медленную и сверхмедленную кинетику и производят постоянные токи в течение нескольких сотен миллисекунд. В ответ на деполяризацию мембраны активация  $Na_v$  обеспечивает приток тока через указанные каналы, что способствует генерации и распространению потенциала действия [64].

По данным S.M. Goldin потенциал-управляемые  $Na^+$ -каналы состоят из  $\alpha$ -субъединицы и одной или двух вспомогательных  $\beta$ -субъединиц. Специфичность строения субъединиц потенциал-управляемых  $Na^+$ -каналов обусловлена генетически. Альфа-субъединица  $Na_v$ -канала кодируется 10 генами [62, 111, 200]. На основании этого разработана нижеследующая классификация (таблица 1).

Таблица 1

**Классификация генов, кодирующих альфа-субъединицу потенциал-управляемых  $Na^+$ -каналов**

Название канала	Кодирующий ген	Локус хромосомы человека	Локализация
<b>Гены <math>\alpha</math>-субъединицы <math>Na_v</math></b>			
$Na_v1.1$	SCN1A	2q24	ЦНС
$Na_v1.2$	SCN2A	2q23–24	ЦНС
$Na_v1.3$	SCN3A	2q24	ЦНС

## Продолжение таблицы 1

Название канала	Кодирующий ген	Локус хромосомы человека	Локализация
<b>Гены <math>\alpha</math>-субъединицы <math>Na_v</math></b>			
$Na_v1.4$	SCN4A	17q23–25	Скелетные мышцы
$Na_v1.5$	SCN5A	3p21	Сердечная мышца
$Na_v1.6$	SCN8A	12q13	ЦНС
$Na_v1.7$	SCN9A	2q24	ПНС
$Na_v1.8$	SCN10A	3p21–24	ПНС
$Na_v1.9$	SCN11A	3p21–24	ПНС
<b>Гены <math>\alpha</math>-субъединицы <math>Na_v</math></b>			
$Na_x$	SCN7A	2p21-23	ЦНС, сердце, гладкая мускулатура

В течение последних двадцати лет, прошедших с момента первоначального изучения потенциал-зависимых натриевых каналов, знания об их роли в физиологии и патофизиологии значительно расширились [12]. Так стало понятно, что первостепенную функциональную нагрузку несет  $\alpha$ -субъединица, в то время как  $\beta$ -субъединицы являются дополнительными и выполняют регуляторную функцию в работе канала, оказывая, таким образом, влияние на кинетику его работы.  $\beta$ -Субъединицы  $Na_v$ -каналов (~30–40 кДа) изначально были обнаружены как вспомогательные белки, однако проведенные исследования последнего десятилетия предоставили убедительные доказательства того, что эти белки не являются просто вспомогательными субъединицами канала, а являются многофункциональными сигнальными белками, выполняя как «проводящие», так и «непроводящие» функции в клеточной сигнализации [67]. Фундаментальный, но

до сих пор нерешенный вопрос состоит в том, чтобы определить точную функцию  $\beta$ -субъединиц [15]. Современные данные подтверждают, что они регулируют локализацию и функцию  $\alpha$ -субъединиц, а также влияют на биофизические свойства канала, модифицируя тем самым свойства ворот канала. В свою очередь, изменения в биофизических свойствах канала, включая особенности кинетики активации или инактивации, могут привести к увеличению или потере функции канала, что влечёт за собой резкие изменения клеточной возбудимости, приводящие к потенциально опасным для жизни заболеваниям [25, 62, 128, 147, 181, 239].

### **Классификация ENaC.**

ENaC-канал, известный как эпителиальный натриевый, находится на поверхности эпителиальных и неэпителиальных клеток и рассматривается как основной ионный канал, регулирующий тонкую настройку обмена  $\text{Na}^+$  и водного гомеостаза [32]. Все ионные каналы ENaC/DEG принадлежат к потенциал-независимым ионным каналам [19]. Каналы ENaC экспрессируются на апикальной поверхности эпителиальных тканей по всему телу и играют важную роль, связанную с регуляцией водного обмена и объема крови и модуляцией клиренса жидкости с поверхности дыхательных путей в эпителиальных клетках легких. В 2021 году, впервые, была обнаружена экспрессия ENaC в неэпителиальных тканях, включая гладкие мышцы сосудов, эндотелий и дендритные клетки [167].

Основываясь на данных генетического секвенирования, следует, что семейство эпителиальных натриевых каналов принадлежит суперсемейству *degenerin/ENaC* (DEG/ENaC) [155]. Первые члены данного суперсемейства, идентифицированные на молекулярном уровне, были названы *Degenerin (DEG)*, потому что их мутантные аллели были связаны с фенотипом нейрональной дегенерации у круглого червя *Caenorhabditis*. Суперсемейство DEG/ENaC считается функционально-неоднородной группой каналов, имеющих схожие биофизические параметры и структурную организацию [125].

Комитетом по номенклатуре генов [238] четырем генам ENaC были присвоены такие аббревиатуры как: SCNN1A, SCNN1B, SCNN1G и SCNN1D после

греческих букв, присвоенных четырем субъединицам ENaC -  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  и  $\delta$  (Таблица 2).

Таблица 2

### Гены и субъединичный состав ENaC

Ген	Субъединица
SCNN1A	$\alpha$
SCNN1B	$\beta$
SCNN1G	$\gamma$
SCNN1D	$\delta$

Вторая буква «N» в «SCNN1» была добавлена для того, чтобы различать «потенциал-независимые» натриевые каналы, а символ SCN1 присвоен «потенциал-зависимому» натриевому каналу, который преимущественно располагается в нейронах и мышцах.

## 1.2 Общие сведения о строении потенциал-управляемых натриевых ионных каналов

Потенциал-управляемые натриевые каналы ( $Na_v$ ) – представляют собой интегральные мембранные белки, ответственные за селективный перенос ионов натрия через клеточную мембрану. Данные каналы инициируют и распространяют потенциалы действия, что является их важнейшей физиологической функцией, в ответ на деполяризацию мембраны в нервных, мышечных и других электрически возбудимых клетках [66, 127, 194]. В результате  $Na_v$ -каналы имеют первостепенное значение для нервной проводимости, сокращения сердечной мышцы и скелетных мышц, секреции, нейротрансмиссии и многих других процессов в человеческом организме.

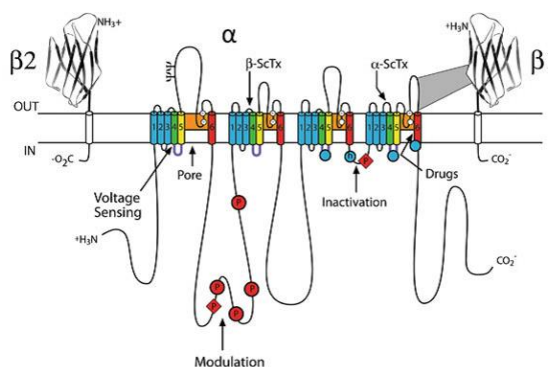
### Общая физиология $Na_v$ -каналов

Токи  $Na^+$  были впервые открыты в 1949 г. A.L. Hodgkin и A.F. Huxley (лауреаты Нобелевской премии 1963 г.) при исследовании потенциала действия в гигантском аксоне кальмара [128]. Авторы данного исследования впервые продемонстрировали, что мембранный потенциал покоя в основном зависит от



проницаемости для ионов калия, тогда как потенциал действия напрямую зависит от проницаемости для ионов натрия. Эта работа имела фундаментальное значение для дальнейшего изучения физиологической функции ионных каналов.

Потенциал-зависимые натриевые каналы представляют собой тетрамерный комплекс (рисунок 2), состоящий из одной главной порообразующей  $\alpha$ -субъединицы ( $\sim 260$  кДа) и одной или двух вспомогательных  $\beta$ -субъединиц меньшего размера (30–40 кДа) [194, 200, 239].



**Рисунок 2.** Структура потенциал-зависимого натриевого канала [63]

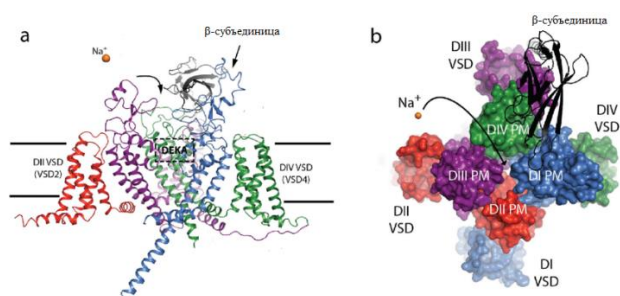
Основную функциональную нагрузку несет  $\alpha$ -субъединица, а  $\beta$ -субъединицы являются дополнительными и выполняют регуляторную функцию в работе канала, оказывая влияние на кинетику его работы и модулируя его потенциал-чувствительность. Более подробно рассмотрим структурную организацию и функциональные особенности альфа-субъединицы натриевого канала.

В  $\text{Na}^+$ -канале  $\alpha$ -субъединица содержит 24 трансмембранных области (ТМ), которые насчитывают около 2000 аминокислот ( $\sim 220$ -260 кДа), и состоит из четырех гомологичных доменов (DI – IV), каждый из которых содержит шесть  $\alpha$ -спиральных трансмембранных сегментов (S1 – S6), которые связаны друг с другом петлями с внутриклеточными N- и C-концами [6, 66, 67]. Каждый домен  $\alpha$ -субъединицы натриевого канала включает в себя несколько важнейших структур, необходимых для её правильного функционирования: порообразующий модуль (PM, *pore module*), селективный фильтр, потенциал-чувствительный модуль (VSM, *voltage-sensing module*), инактивационные ворота (IFM) [167, 196].

**Порообразующий модуль.** Сегменты S5 и S6 вместе с соединяющей их P-петлёй непосредственно составляют PM [64]. P-петля ограничивает узкий вход в

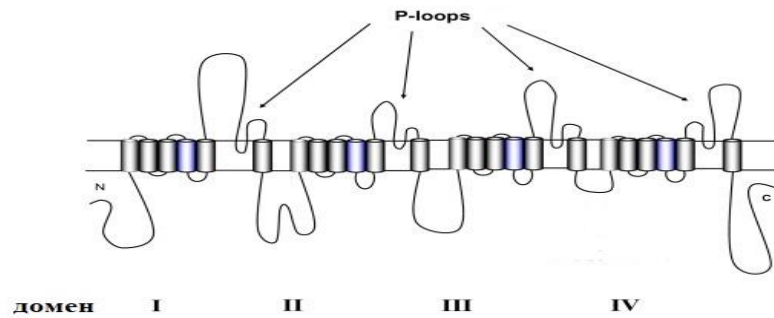
пору снаружи, а сегменты S5 и S6 ограничивают внутренний, более широкий, выход из поры [215].

К.А. Kruth в своем исследовании представил модель РМ домена, пояснив, что он формируется в центре белка, и показал вид сбоку и сверху на пору  $\alpha$ -субъединицы потенциал-управляемого натриевого канала, что можно видеть на рисунке 3.



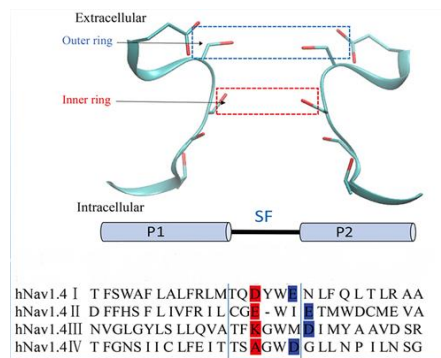
**Рисунок 3.** Модель  $\alpha$ -субъединицы потенциал-зависимого натриевого канала [204]. **а)** Вид сбоку на порообразующий домен  $\alpha$ -субъединицы потенциал-зависимого натриевого канала. Каждый из четырех доменов обозначен разным цветом. Ион натрия обозначен оранжевым цветом и показан за пределами поры канала. Область ДЕКА представляет собой фильтр селективности, состоящий из боковых цепей Asp, Glu, Lys и Ala. **б)** Вид сверху, изображающий четыре симметрично расположенных домена и центральный путь проникновения для РМ

**Селективный фильтр.**  $\text{Na}_v$ -каналы управляют возбудимостью, контролируя избирательный приток ионов  $\text{Na}^+$ . Такая избирательность определяется селективным фильтром — самым узким местом канальной поры. Селективный фильтр образован реентерантными (возвратными) Р-петлями (*P-loops*) между трансмембранными сегментами S5 и S6 каждого домена и отвечает за избирательное пропускание ионов  $\text{Na}^+$  [66]. Р-петли являются важными элементами в  $\alpha$ -субъединице  $\text{Na}_v$ , которые проходя половину клеточной мембраны, затем поворачивают обратно в ту сторону, с которой они начинались, [237, 256] как показано на рисунке 4.



**Рисунок 4.** Схема трансмембранной области  $\alpha$ -субъединицы потенциал-зависимого  $\text{Na}^+$ -канала. Цилиндрами представлены  $\alpha$ -спиральные сегменты, а жирными линиями обозначены полипептидные цепи. Сегменты S4 (синие) — это сенсоры напряжения [237]

P-петли  $\text{Na}^+$ -каналов содержат, спирали с а.о. между P1 и P2 (нисходящие через мембрану (P1) и восходящие к мембране (P2)), которые составляют фильтр селективности [241]. Таким образом, селективный фильтр состоит из двух поровых колец – внутреннего и внешнего, образованных пространственно сближенными а.о. разных псевдосубъединиц, как показано на рисунке 5.



**Рисунок 5.** Структурное представление двух поровых колец селективного фильтра  $\text{Na}_v$ . Два кольца: внутреннее кольцо (или кольцо DEKA) заштриховано красным, внешнее кольцо (или кольцо EEDD) - синим. Положения этих двух колец обозначены пунктирными рамками, окрашенными в красный и синий цвета соответственно, в структурном представлении (верхняя панель) [152]

Внешнее кольцо селективного фильтра образовано отрицательно заряженными а.о. глутамата, которые притягивают положительный  $\text{Na}^+$  и не пропускают отрицательно заряженные ионы (EEDD-мотив). Основную функциональную нагрузку обеспечивает внутреннее кольцо селективного фильтра, локализованное в непосредственной близости от внешнего и имеющее четыре

различных а.о.: аспарат в домене I, глутамат в домене II, лизин в домене III и аланин в домене IV (ДЕКА-мотив). Замены этих а.о. нарушают селективность  $\text{Na}^+$  [66]. Среди остатков ДЕКА наибольшее значение имеет лизин, поскольку его мутации в аланин, или даже аргинин, полностью изменяют селективность для ионов  $\text{Na}^+$  в  $\text{Na}_v$ -каналах млекопитающих. Однако, молекулярные детали селективности ионов  $\text{Na}^+$  в натриевых каналах до сих пор неизвестны [150]. Итак, при прохождении селективного фильтра частично гидратированный ион  $\text{Na}^+$  взаимодействует с двумя атомами кислорода карбоксильной группы глутаминовой кислоты. Во время этого процесса а.о. ДЕКА-мотива смещаются для образования водородных связей и ван-дер-ваальсовых взаимодействий [213].

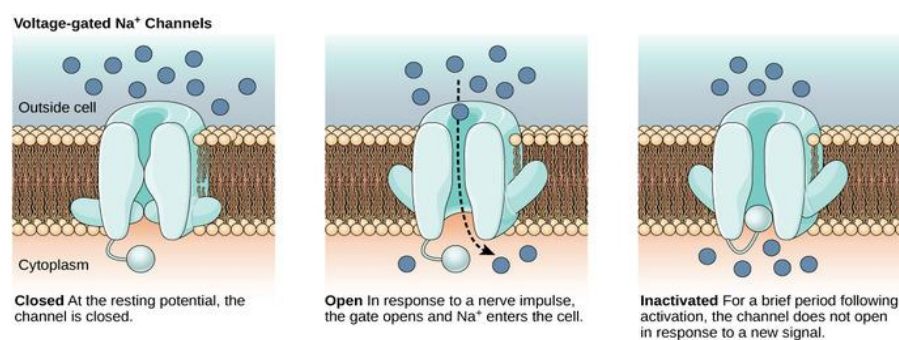
#### **Потенциал-чувствительный модуль и инактивационные ворота.**

Каждый домен содержит потенциал-чувствительный модуль, сформированный четырьмя ТМ-спиралями S1–S4. Однако, функцию «сensors потенциала» выполняют, главным образом, сегменты S4, которые имеют доменно-специфические функции, особенно в процессах активации и быстрой инактивации, предполагается, что это связано с тем, что положительно заряженные а.о. аргинина и лизина в каждом домене находятся с разной плотностью заряда [199]. Как указывает W.A. Catterall в своих исследованиях, каждый из четырех сенсоров напряжения активируется в ответ на деполяризацию мембранного потенциала; сенсоры напряжения первых трех доменов (DI – III) отвечают за активацию канала, а датчики четвертого домена (DIV) определяют быструю инактивацию [66].

Для понимания процесса активации  $\text{Na}_v$ -канала (переход из закрытого в открытое состояние) необходимо отметить, что сенсор напряжения и порообразующий модуль связаны  $\alpha$ -спиральным линкером S4-S5. В ответ на деполяризацию клеточной мембраны сегменты S4 смещаются относительно других структурных элементов канала во внеклеточную сторону, что через линкеры S4–S5 «ощущается» порообразующим модулем и приводит к открытию поры. В свою очередь, для процесса инактивации (перехода из открытого в инактивированное состояние) требуется, так называемая, инактивационная петля (или инактивационные ворота), расположенная между доменами III и IV,

перекрывающая ток ионов  $\text{Na}^+$ , при высоких значениях потенциала. Считается, что инактивационная петля – это гидрофобный мотив, содержащий аминокислотную последовательность Ile-Phe-Met (IFM) и, располагаясь внутриклеточно, соединяет домены III и IV. Эта триада является ключевой для быстрой инактивации; фланкирующие ее остатки глицина играют роль «молекулярных шарниров», увеличивая ее конформационную подвижность и тем самым облегчая процесс ее перемещения в направлении поры канала [141, 213].

**Воротный механизм натриевого канала.** Детальный анализ функционирования потенциал-активируемых  $\text{Na}$ -каналов методами фиксации потенциала на гигантских аксонах беспозвоночных и миелинизированных нервных волокнах позвоночных животных, что впервые было описано в научных исследованиях В. Hille в 1992 году, привёл к созданию модели работы  $\text{Na}$ -канала [126]. Изменение состояния натриевого канала обеспечивается работой воротного механизма, который характеризуется тремя процессами: **активация** при деполяризации, **инактивация** при длительной деполяризации и **регенерации** канала при его выходе из инактивированного состояния.  $\text{Na}$ -каналы закрыты при нормальных значениях мембранного потенциала покоя и открываются на очень короткое время (1 мс и менее) при деполяризации, как показано на рисунке 6.



**Рисунок 6.** Основой принцип функционирования воротного механизма натриевого канала [19]

На данном рисунке схематично представлены три основные состояния канала: слева – активируемое закрытое; посередине – открытое; справа – инактивированное закрытое, когда канал блокирован инактивирующим N-концевым доменом. Согласно схеме, канал проходит через эти состояния слева

направо при деполяризации и справа налево при гиперполяризации [19]. Канал, открывшийся при деполяризации, снова закрывается (деактивируется) при реполяризации мембраны. По сути, этапы деактивации зеркально отражают процесс активации. На первом этапе сегмент S4 снова перемещается к внутренней стороне мембраны, перестраивая таким образом порообразующие сегменты; процесс завершается закрытием канала. Охарактеризуем каждый из данных процессов более подробно.

**Активация.** Модель активации канала была предсказана еще в 1952 году A.L. Hodgkin и A.F. Huxley и экспериментально подтверждена F. Bezanilla и C.M. Armstrong (1975) [37]. Несмотря на значительные успехи в изучении пространственной структуры  $Na_v$  (структурные исследования с использованием криоэлектронной микроскопии и рентгеновской кристаллографии позволили получить модели бактериального натриевого канала  $Na_vAb$  с высоким разрешением как в состоянии покоя, так и в активированном состоянии [87, 194]), точный механизм активации канала не до конца понятен.

В настоящее время считается, что для открытия, т.е. активации  $Na_v$  необходима затрата энергии, которую обеспечивает классический потенциал-зависимый воротный процесс (gating). Это явление происходит в результате изменения мембранного потенциала, запускающего каскад конформационных изменений молекулы канала. Вначале – передача электрической энергии сенсору потенциала, который соответствует сегменту S4 [19] сразу трех псевдосубъединиц I–III. При этом IVS4 с некоторой задержкой также переходит в активированное состояние. Сегмент S4 служит главным датчиком напряжения благодаря высокой концентрации положительно заряженных аминокислотных остатков. Сегменты S1–S3 образуют структуру поры, через которую сегмент S4 переходит из состояния покоя в активированное состояние. В состоянии покоя сегмент S4 располагается ближе к внутренней стороне мембраны. Данный трансмембранный сегмент имеет положительный заряд, благодаря которому может перемещаться в электрическом поле: при деполяризации мембраны сегмент S4 перемещается наружу, в сторону внеклеточного пространства. После деполяризации мембраны сегмент S4 движется

во внеклеточном направлении, и это изменение конформации стимулирует открытие ворот канала. Затем, вследствие перемещения S4 окружающие его трансмембранные сегменты, особенно порообразующий модуль S5 и S6, претерпевают ряд конформационных изменений, главным образом повороты и наклоны. В результате пора канала, расположенная под селективным фильтром, расширяется, и происходит открытие канала [19, 67]. Таким образом,  $\text{Na}_v$ -каналы подвергаются быстрой активации, чтобы инициировать фазу роста потенциала действия, за которой следуют быстрые и медленные процессы инактивации.

**Инактивация.** Каналы  $\text{Na}_v$ -типа после их активации не остаются открытыми, несмотря на продолжение деполяризации мембраны, а вновь закрываются, так что ионный ток прекращается. Такое закрытие канала, при деполяризованной мембране, носит название – инактивация. Это явление обусловлено перекрытием поры белковыми цитоплазматическими инактивационными воротами (представленные инактивационной петлей, *IFM*). В  $\text{Na}_v$ -каналах это короткий участок, соединяющий 3 и 4-ый сегменты шестисегментного домена (*interdomain III-IV linker*). Длинная внеклеточная петля соединяет трансмембранные сегменты S5 и S6 с P-петлей в каждом домене и связывает четыре гомологичных домена, а короткая внутриклеточная петля, соединяющая гомологичные домены III, IV и выступающая в роли *IFM*, образует складку, внедряющуюся внутрь канальной структуры и блокирующую пору изнутри в течение длительной деполяризации мембраны [6, 66].

Предполагается, что инактивация состоит из двух этапов. Соответственно, выделяют два типа инактивации  $\text{Na}_v$ : быструю и медленную. Быстрая инактивация натриевых токов является важным механизмом снижения притока ионов натрия в клетку во время генерации потенциала действия. Связь между движением заряда затвора и быстрой инактивацией была впервые описана F. Bezanilla и С.М. Armstrong в 1977 году [37]. Быстрая инактивация  $\text{Na}_v$ -каналов прекращает проводимость ионов  $\text{Na}^+$  в течение нескольких миллисекунд после открытия канала, что необходимо для генерации ПД в электрически возбудимых клетках и контроля ионного потока натрия. Указанный процесс задействует такие структуры

как: пору канала и инактивационные ворота, которые образованы тремя ключевыми гидрофобными остатками, IFM (Ile-Phe-Met) и смежным треонином [66].

Молекулярные механизмы, лежащие в основе медленной инактивации, неясны, хотя их изучением занимаются уже более 50-ти лет, их структурная основа в  $\text{Na}_v$ -каналах остается загадочной. Медленная инактивация — это отдельный процесс со структурной основой и отличным механизмом от быстрой инактивации. Известно, что в процесс медленной инактивации вовлечены многие участки канала. В кинетике процесса медленной инактивации участвуют следующие структуры: PM, обращенный к внутриклеточной и внеклеточной сторонам; сенсор напряжения канала и внутриклеточные петли [200]. Современные исследования [50] показывают, что процесс медленной инактивации обусловлен изменениями конформации каналобразующего белка, прежде всего в области селективного фильтра. Подобный альтернативный механизм инактивации, который можно наблюдать в  $\text{Na}_v$ -каналах, с функциональной точки зрения важен в двух аспектах. Во-первых, это предпосылка для блокирования  $\text{Na}_v$ -каналов местными анестетиками (например, лидокаином), а во-вторых, это возможность продления инактивированного состояния  $\text{Na}_v$ -каналов на период до нескольких секунд. Важным является то, что направленная мутация ключевого мотива IFM инактивационных ворот полностью выводит из строя быструю инактивацию, но оставляет нетронутой медленную инактивацию. Этот ключ указывает на то, что механизмы, лежащие в основе процессов медленной инактивации, отличаются от быстрой инактивации и локализованы в других областях структуры  $\text{Na}_v$ -канала [50]. Процесс медленной инактивации, который уменьшает количество каналов, доступных для открытия, регулирует возбудимость. Незначительные дефекты медленной инактивации могут вызывать заболевания, включая мутации, связанные с периодическим параличом и синдромами Бругада [185].

Рассматривая, как все эти разные структуры канала взаимодействуют, чтобы вызывать инактивацию, можно сказать, что это сложная задача, и предстоит еще



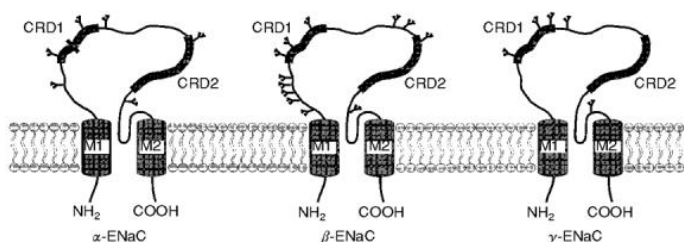
много сделать, чтобы лучше понять движения белков, которые лежат в основе процесса инактивации  $\text{Na}_v$ -каналов.

### 1.3 Общие сведения о строении эпителиальных натриевых каналов

Биофизические свойства и молекулярная структура ENaC тщательно исследуются с 1994 года, когда ENaC был первоначально клонирован из эпителия толстой кишки крысы [29]. Пространственная структура ASIC-каналов стала известна в 2007 году благодаря рентгену кристаллической структуры ASIC1a-канала курицы [138]. Выявленная в процессе исследования кристаллическая структура ASIC1, члена суперсемейства ENaC/DEG, улучшила понимание о строении доменов субъединиц ENaC [78, 142, 214].

В 2018 году впервые с помощью криоэлектронной микроскопии была получена молекулярная структура ENaC человека, и было выявлено, что субъединицы  $\alpha\beta\gamma$  образуют гетеротримерную структуру со стехиометрией 1:1:1 против часовой, однако структура субъединиц  $\delta\beta\gamma$  ENaC до сих пор исследуется [47]. Указанные особенности были подтверждены недавно уточненной структурой ENaC [214].

Как первоначально было предложено для *sASIC1* [119], отдельные субъединицы ENaC представляют собой гетеротримеры, состоящие из структурно связанных субъединиц, называемых  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$ , и образуют тримеры, которые расположены против часовой стрелки [180], если смотреть из внеклеточного пространства, что показано на нижеследующем рисунке:



**Рисунок 7.** Строение субъединиц ( $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -) ENaC. M1 и M2 обозначают спиральные трансмембранные домены; CRD1 и CRD2 указывают на богатые

цистеином домены; указаны сайты гликозилирования (6 - на  $\alpha$ -ENaC, 12 - на  $\beta$ -ENaC и 5 - на  $\gamma$ -ENaC) [51]

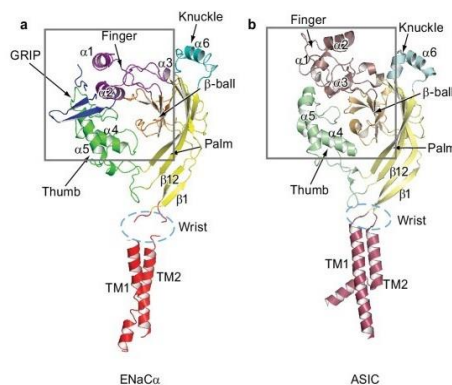
Субъединицы ENaC экспрессируются в апикальной мембране специфических клеток, в альдостерон-чувствительном дистальном отделе нефрона, где канал играет ключевую роль в реабсорбции отфильтрованного  $\text{Na}^+$  и регулировании объема внеклеточной жидкости и кровяного давления, а также в облегчении секреции  $\text{K}^+$  [90]. Они экспрессируются в других местах, которые также влияют на кровяное давление, включая эпителий язычка, моноциты, эндотелий и гладкие мышцы сосудов [27].

У некоторых видов позвоночных, включая человека, существует дополнительная  $\delta$ -субъединица, которая может функционально заменять  $\alpha$ -субъединицу в гетерологичных системах экспрессии, тем самым изменяя функцию и регуляцию канала [250]. Функционально  $\delta$ -субъединица сходна с  $\alpha$ -субъединицей и экспрессируется в определенных тканях, замещая  $\alpha$ -субъединицу с образованием  $\delta\beta\gamma$  со свойствами, которые отличаются от каналов  $\alpha\beta\gamma$ -субъединиц тем, что являются менее чувствительными к амилориду, и их активность зависит от кислотности среды [113].

Первоначально была построена пространственная модель ENaC мыши с использованием SWISS-MODEL [217], затем на ее основе была представлена структура ENaC человека. Данная простая модель гомологии ENaC человека не является окончательной или полной. Скорее всего, это лишь позволяет нам сформировать перспективу для рационального обсуждения возможных сходств и различий между ENaC и ASIC в отношении структурно-функциональных и стролирующих механизмов [27].

Рассмотрим подробнее указанную человеческую модель ENaC (рисунок 8). Каждая отдельная субъединица ENaC состоит из 650–700 аминокислот с молекулярной массой около 70–100 кДа, двух трансмембранных доменов, коротких внутриклеточных N- и C-концов, и большого внеклеточного домена. Домены субъединиц ENaC и ASIC с высоким сходством последовательностей между этими двумя ионными каналами: домены «pulm» (желтый - ENaC, бледно-

желтый - ASIC) и домены « $\beta$ -ball» (оранжевый - ENaC, светло-оранжевый - ASIC) структурно консервативны. Структурные различия наблюдаются в «knuckle» (голубой — ENaC, бледно-голубой — ASIC) и «finger» (фиолетовый — ENaC, малиновый — ASIC) доменах



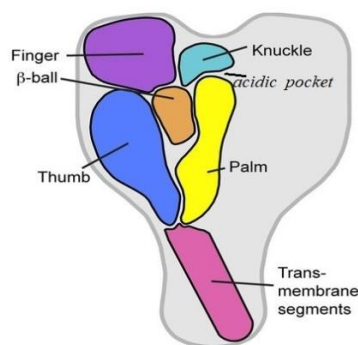
**Рисунок 8.** Сравнение структуры субъединиц ENaC и ASIC. (а) Общая архитектура субъединицы ENaC аналогична архитектуре субъединицы (b) ASIC курицы [138]

Подчеркнем еще раз, что общая доменная организация внутри каждой субъединицы ENaC совпадает с таковой в ASIC, что впервые было продемонстрировано на кристаллической структуре куриной ASIC (сASIC). Таким образом, каждая субъединица ENaC включает четыре функциональных домена [47, 90, 214, 233]:

- 1) *трансмембранный домен*, состоящий из двух трансмембранных участков TM1 и TM2 и формирующий центральную ионную пору канала;
- 2) *GRIP-домен* (GRIP, *gating relief of inhibition by proteolysis*), расположенный на границе доменов thumb и finger);
- 3) *внутриклеточный домен*, содержащий два коротких цитоплазматических N- и C-конца;
- 4) *большой экстраклеточный домен* (~370 а.о.), соединяющий два трансмембранных участка.

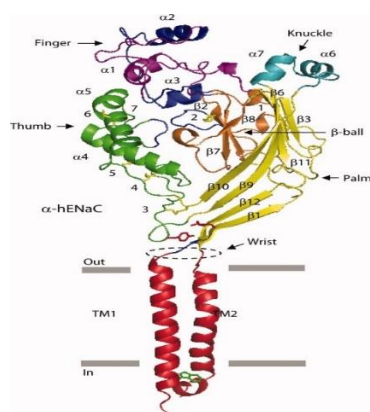
Каждый домен опишем более подробно.

**Экстраклеточный домен и GRIP.** Экстраклеточный домен (ЭКД) - самый крупный домен семейства натриевых каналов DEG/ENaC. ЭКД можно разделить на пять субдоменов. Форму каждого субдомена сравнили с формой руки, (сжимающей маленький мяч), прикрепленную к мембранным сегментам с помощью подвижного запястья [143], а внеклеточные домены были обозначены как «palm», «knuckle», «finger», «thumb» и « $\beta$ -ball», как показано на рисунке 9.



**Рисунок 9.** Пространственное расположение частей одной субъединицы в терминах руки: «ладонь» – palm домен, «большой палец» – thumb домен, «палец» – finger домен, «сустав» – knuckle домен и домен под названием « $\beta$ -шар» –  $\beta$ -ball [138]

ЭКД состоит из семи  $\alpha$ -спиралей ( $\alpha$ 1-7), 12  $\beta$ -листов ( $\beta$ 1-12) и семи дисульфидных связей (Рисунок 10).



**Рисунок 10.** Изображение структуры ЭКД и трансмембранного домена с указанием  $\alpha$ -спиралей и  $\beta$ -листов. Трансмембранные домены TM1 и TM2 выделены красным, желтым выделен субдомен «palm», оранжевым – « $\beta$ -ball», голубым – «knuckle», и зеленым цветом выделен «thumb» [134]

В центре тримерной архитектуры ЭКД находятся  $\beta$ -листы, образованные  $\beta$ 1,  $\beta$ 3,  $\beta$ 6 и  $\beta$ 9- $\beta$ 12, которые составляют домен «palm», разделенный на две части,

верхний и нижний «palm» домены [214]. На рисунке 6 два домена, называемые «palm» и « $\beta$ -ball», образованы  $\beta$ -цепями и находятся в непосредственной близости от билипидного слоя. Более периферические домены, называемые «thumb», «finger» и «knuckle», образованы в основном  $\alpha$ -спиралями. Домен, который связывает «palm» с трансмембранными доменами, называется «wrist» домен. Подчеркивая важность области «wrist» и решающую роль, которую дисульфидные мостики играют в поддержании структурной и функциональной целостности ENaC, изменения консервативного цистеина,  $\alpha$ -Cys479 в Arg вызывают синдром Лиддла из-за миссенс-мутации, которая не только нарушает структуру дисульфидного мостика, расположенного на стыке доменов «thumb» и «palm», но также способствует введению избыточного положительного заряда внутрь клетки [22, 119]. Домен «palm» содержит подвижные части, которые соединяют участки  $\beta$ 1 и  $\beta$ 2 и, также,  $\beta$ 11 с  $\beta$ 12, названные соответственно  $\beta$ 11- $\beta$ 12 и  $\beta$ 1- $\beta$ 2 линкерами [214]. Центральное ядро образовано несколькими  $\beta$ -нитями, которые образуют домен « $\beta$ -ball» ( $\beta$ 2,  $\beta$ 4,  $\beta$ 5,  $\beta$ 7 и  $\beta$ 8). Его функциональная роль в ENaC четко не определена [30, 138]. Домен «palm» является внеклеточным продолжением трансмембранных сегментов и формирует богатый  $\beta$ -цепями каркас части внеклеточного канала. За счёт домена «palm», который соприкасается с доменом «thumb» соседней субъединицы, каждая субъединица контактирует с соседней. «Knuckle» и « $\beta$ -ball» расположены сверху и вдоль верхней половины домена «palm» соответственно [231].

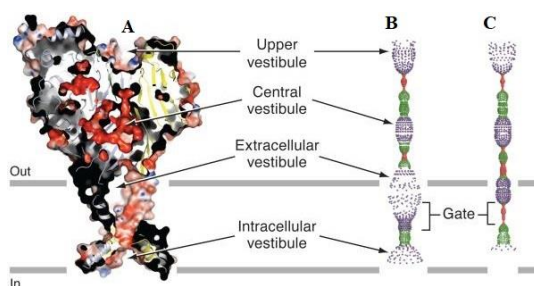
Значимой особенностью структуры ЭКД является наличие «кислотного кармана» (acidic pocket) - скопление кислых аминокислот в одном небольшом участке (Рисунок 10). Важно отметить, что пары аминокислот расположены таким образом, что способны, при малейшем изменении своего энергетического состояния, вызвать конформационные изменения в «thumb» домене, который в свою очередь способен вызвать конформационные изменения в «wrist» и далее в трансмембранном домене [44].

Домен **GRIP**, согласно исследованиям S. Noreng и A. Bacconguis, выполненным при помощи криоэлектронной микроскопии, имеет структуру  $\alpha\beta\gamma$ -

субъединицы ENaC [44]. Таким образом, впервые подтверждено, что ингибирующий тракт, который они назвали GRIP-доменом расположен на границе доменов «thumb» и «finger». Каждый домен GRIP состоит из сердцевины, представленной  $\beta$ -тяжами, которые взаимодействуют с доменами «thumb» и «finger», образуя «blanket»  $\beta$ -листа, которое скрывает  $\alpha$ -спираль «finger» домена [214]. Исследования группы Kleyman T.R. выявили 8- и 11-мерные пептидные участки в  $\alpha$ - и  $\gamma$ -доменах GRIP, которые участвуют в закрытии каналов [90].

**Трансмембранный домен и ионная пора** (представлены на примере ASIC1a). Нижняя часть домена «palm» напрямую связана с трансмембранным доменом (ТМД) через  $\beta 1$ ,  $\beta 12$ , и с  $\alpha 4$  и  $\alpha 5$  листами домена «thumb» через  $\beta 9$  и  $\beta 10$ . ТМД образован шестью  $\alpha$ -спиралями - по две от каждой из трёх субъединиц. ТМ1 и ТМ2 каждой субъединицы участвуют в формировании центральной поры ENaC (Рисунок 10) [172, 180]. Общая структура ТМД всех трех субъединиц показывает, что ТМ2 непосредственно выстилает просвет ионной поры, в то время как ТМ1 выполняет каркасную роль, контактируя с билипидным слоем и образуя множество связей с ТМ2 той же молекулы и ТМ2, и ТМ1 сегментами соседней субъединицы. На цитоплазматической стороне ТМ-сегментов участки ТМ1 и ТМ2 участки богаты остатками положительно заряженных аминокислот Лиз и Арг. Описанное расположение субдоменов «thumb» и «palm», относительно ТМ1 и ТМ2, сохраняется в sASIC1 и ENaC человека. Кроме того, в обоих белках линкерная область «wrist», по-видимому, прикрепляет нити  $\beta 1$  и  $\beta 12$  «palm» к внеклеточным частям доменов ТМ1 и ТМ2, участвующих в формировании пор. Более того, нити  $\beta 1$  и  $\beta 12$  из соседних субъединиц переплетаются в короноподобную структуру, которая находится на вершине поры. Такая структура, напоминающая корону, имеет интересную аналогию с нитями управления марионеткой, способными влиять на стробирование канала путем скручивания или небольшого смещения в ответ на информацию, полученную от областей «thumb», «knuckle» и «finger». Это дает им возможность транслировать информацию из других внеклеточных доменов в изменения в стробировании каналов [134].

Пора канала, способная пропускать положительно заряженные ионы, разделяется на экстраклеточные и внутриклеточные области, называемыми «преддвериями» (Рисунок 11).



**Рисунок 11.** А - модель ASIC1a, демонстрирующая «преддверия» в просвете канала. В - «преддверия» в открытом состоянии канала. С - «преддверия» в десенситизированном состоянии канала [255]

Как показано на рисунке 8, в структуре ASIC1-канала присутствуют четыре «преддверия»: верхнее, центральное, внеклеточное и внутриклеточное. Верхнее «преддверие» напрямую контактирует с внеклеточной областью. Между внеклеточным и внутриклеточным «преддверием» расположены так называемые «десенситизационные ворота» [246]. Самая узкая часть поры – селективный фильтр. Если в закрытом и десенситизированном состоянии канала самая узкая его часть начинается с Asp433, то у открытого состояния наименее проходимый участок расположен несколько глубже в пору и образован остатками Гли443-Ала444-Сер445. ENaC обладает высокой селективностью и позволяет проникать через канал катионам  $\text{Na}^+$  и более мелким катионам  $\text{Li}^+$  и  $\text{H}^+$ , при этом более крупные катионы, такие как катионы  $\text{K}^+$ ,  $\text{Rb}^+$ ,  $\text{Cs}^+$ , не могут проходить сквозь канал [31]. Также было исследовано, что амилорид, за счёт погружения аминогруппы в пору канала в районе внеклеточного вестибюля, способен частично перекрывать пору, что проявляется его ингибирующим эффектом [49, 87].

### **Внутриклеточный домен**

Внутриклеточные С- и N-концы (длина 35-90 а.о.) ENaC-каналов играют важные роли в гейтинге, ионной проницаемости, внутриклеточных белок-белковых взаимодействиях, модуляции внутриклеточными молекулами [209]. Домен в N-концевом участке, ближайший к трансмембранному домену ТМ1,

ответственен за селективность канала к ионам  $\text{Na}^+$ . Цитоплазматический N-конец участвует во многих важных функциях: эндоцитозе, сборке канала, воротных характеристиках, деградации канала [192]. Обнаружено влияние точечных мутаций в N-концевом домене на воротные характеристики ENaC. Показано, что точечные мутации, вызывающие замену высококонсервативных остатков глицина на серин ( $\alpha$ -rENaC (G95S),  $\beta$ -rENaC (G37S),  $\gamma$ -rENaC (G40S)), резко уменьшают амилорид-чувствительные натриевые токи. Показано, что уменьшение амилорид-чувствительных  $\text{Na}^+$  токов в данном случае связано с уменьшением вероятности открытого состояния ENaC [87, 192, 209].

### **Механизм активации канала.**

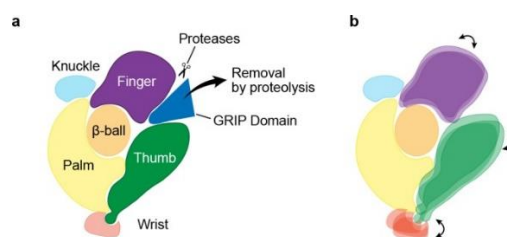
Примечательно, что ENaC представляет собой единственный член семейства ионных каналов DEG/ENaC, который открывается в отсутствие активирующего стимула, т.е. имеет вероятность спонтанного открытия ( $P_o$ ) [169, 250]. Гидростатическое давление, растяжение мембраны и силы сдвига являются ключевыми механическими факторами, определяющими изменение просвета пор канала. ENaC может быть активирован при взаимодействии с силой напряжения сдвига жидкостей в организме, особенно в эндотелиальных клетках, которые участвуют в поддержании базального тонуса сосудистой стенки [70, 169, 243].

Активность ENaC может регулироваться различными факторами, такими как протеазы, pH и напряжение сдвига (SF, *shear stress*) и давление [196]. SF — это сила трения, в основном вызываемая движением частиц (например, жидкостей) параллельно поверхностям (например, поверхностям, покрытым эпителиальными клетками). Было доказано, что физиологическая SF, вызванная движением мочи в почечных канальцах, активирует ENaC, например,  $\beta$ -субъединица ENaC важна для регуляции миогенного тонуса почечных артерий *in vitro* и *in vivo* [196]. В целом, есть доказательства, подтверждающие гипотезу, что неканонический ENaC, состоящий либо из одной, либо из комбинации двух субъединиц, может формировать функциональные каналы, относящиеся к механо-чувствительным каналам [243].



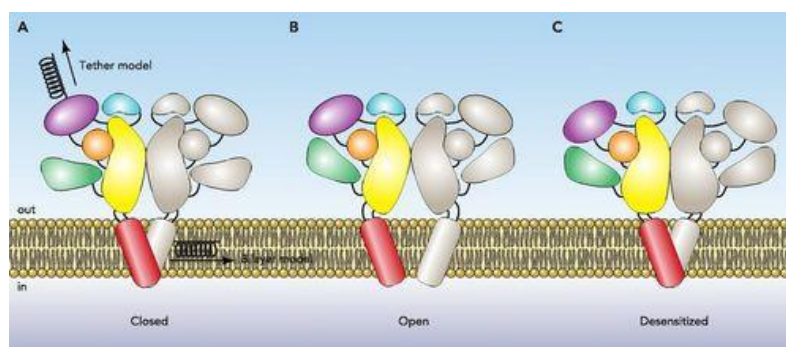
Среди ионных каналов семейства DEG/ENaC уникальной особенностью ENaC является его протеолитическая активация. Для активации каналов важны ЭКД  $\alpha$ - и  $\gamma$ -субъединиц ENaC [243]. Протеазы способствуют открытию ENaC путем расщепления специфических участков экстраклеточного домена  $\alpha$ -субъединицы и  $\gamma$ -субъединицы, но не его  $\beta$ -субъединицы. Расщепление, вероятно, изменяя конформационные свойства канала, приводит к его активации [142].

Механизм активации ворот включает конформационные изменения доменов «finger» и «thumb», которые распространяются на ионную пору канала через «wrist» (Рисунок 12).



**Рисунок 12.** Механизм гейтирования при участии протеаз в одной субъединице ENaC. Удаление чувствительных к протеазе сегментов домена GRIP (а) индуцирует конформационные изменения в доменах «finger» и «thumb» (б), что связано с открытием ионных каналов через домен «wrist» [214]

В нижеследующем рисунке предлагается модель, в которой активация канала включает изменение относительной ориентации доменов «finger», «thumb» и «palm» [31] (Рисунок 13). Данные движения совпадают с конформационными изменениями в нижнем домене «palm». Вращение спиралей ТМ способствует расширению поры (Рисунок 13 А, В). Степень этого вращения и расширения может быть ограничена взаимодействиями между соседними субъединицами. При десенсбилизации домен «palm» перестраивается, изменяя окклюзию, наблюдаемую в закрытом состоянии (Рисунок 13 В, С).



**Рисунок 13.** Предположительные движения во время стробирования канала DEG. **А.** В этом сценарии механические стимулы доставляются внеклеточным тросом (левая пружина), путем изменения натяжения двух слоев (правая пружина) или и тем, и другим. В закрытом состоянии поры канала ДЭГ закупорены. **В.** Открытие сопровождается перестройками как в эктодомене, так и в трансмембранном домене. **С.** При постоянной стимуляции канал может принимать конформацию, наблюдаемую в кристаллических структурах десенсibilизированных каналов ASIC1a [87]

### **Селективность.**

Селективность семейства DEG/ENaC несмотря на то, что она изучалась в течение десятилетий, до сих пор плохо изучена, так как точное местонахождение селективного фильтра в канальном белке неизвестно. В нескольких исследованиях, проведенных вскоре после клонирования трех субъединиц канала ( $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$  ENaC), были идентифицированы аминокислоты, предположительно находящиеся вблизи внеклеточного интерфейса его трансмембранной поры, как вероятное место для фильтра, так как мутации в этом сайте часто снижают катионную селективность [78, 247].

## **1.4 Общие сведения о генетических однонуклеотидных вариантах белковых субъединиц натриевых каналов и их роль в патофизиологии заболеваний**

Необходимо отметить, что современные молекулярные методы идентифицируют гены субъединиц ионных каналов, вовлеченные в сложный

патогенез ЭГ. Данные свидетельствуют о том, что субъединицы натриевых ионных каналов выполняют значимую роль в регуляции АД, и что экспрессия этих субъединиц изменяется во время развития АГ, возможно, как причина или следствие, а также как компенсаторный механизм. Мы ограничились рассмотрением двух типов каналов:  $Na_v$  и ENaC.

На данный момент выявлено более 200 миссенс-мутаций, которые влияют на различные виды ионных натриевых каналов и вызывают расстройства их возбудимости или каналопатии. Каналопатии представляют собой нарушения, вызванные аномальной функцией ионных каналов в дифференцированных возбудимых тканях. Хотя эти нарушения встречаются редко, они являются примером того, как генетически измененные белки оказывают сильное влияние на функционирование натриевых каналов [121].

#### **1.4.1 Роль эпителиальных натриевых каналов (ENaC) в патофизиологии различных заболеваний**

Надсемейство белков ENaC/DEG представляет собой механочувствительные натрий-селективные ионные каналы [151, 227], проницаемость которых меняется при растяжении мембраны, что приводит к изменению их возбудимости. В настоящее время механочувствительные каналы являются самым малоизученным классом ионных каналов и поэтому представляют интерес для понимания механизмов клеточной сигнализации, т.к. важная физиологическая роль канала ENaC состоит в поддержании баланса ионов  $Na^+$  во внеклеточной жидкости. Известно, что механическое растяжение мембран увеличивает кинетику потенциал-зависимых натриевых каналов [164]. Именно за счет этих каналов мембранный потенциал, например, в гладкомышечной клетке сосудов (ГМК) относительно низкий — он составляет -40 — -50 мВ, в то время как в других возбудимых клетках он составляет -80 — -90 мВ [205].

В современных исследованиях обнаружены подтверждения, что ENaC экспрессируются в эпителиальных клетках человека, которые выстилают

дистальные отделы почечных канальцев и толстой кишки, верхние и нижние дыхательные пути, где играют ключевую роль в гомеостазе  $\text{Na}^+$  [41, 83, 187, 230]. Сосудистая сеть является важной частью регуляции АД. Исследования *in vitro* на линиях эндотелиальных клеток (ЭК) человека показали, что за счет усиленного проникновения  $\text{Na}^+$  в ЭК повышается уровень внутриклеточного  $\text{Na}^+$ , что приводит к ингибированию выработки эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS), увеличению жесткости эндотелия и впоследствии ограничению образования оксида азота (NO) [167], увеличивая тем самым жесткость эндотелия и способствуя изменению сосудистого тонуса [230].

Отметим, что научных данных об экспрессии субъединиц  $\alpha$ ,  $\beta$ , и  $\gamma$  ENaC в ЭК и ГМК сосудов крайне мало, однако все они указывают на возможную роль данных субъединиц в эндотелиальной дисфункции [158, 167, 222]. Субъединица  $\delta$ -ENaC является наименее изученной [184]. Понимание клеточных механизмов, лежащих в основе функционального влияния эпителиальных натриевых каналов ЭК и ГМК на регуляцию сосудистого тонуса и АД, до сих пор исследуется [151, 222]. ГМК сосудов экспрессируют разнообразный набор ионных каналов, которые участвуют в миогенном тонусе и его регуляции. Несколько исследований показывают, что белки ENaC экспрессируются в ГМК, выделенных из миогенно активных участков сосудистого русла [248]. Экспериментально на мышцах было зафиксировано, что при фармакологическом ингибировании  $\alpha$ -субъединицы ENaC меняется сосудистая реакция на напряжение сдвига сосудистой стенки артерий, и нарушаются процессы вазодилатации. В дальнейшем этот эксперимент был имитирован генетической делецией  $\alpha$ -субъединицы ENaC в ЭК [226]. В совокупности эти данные свидетельствуют о том, что эндотелиальный ENaC изменяет сосудистую сигнализацию, и его роль более сложна, чем данные, полученные в ходе исследования клеточных культур. Н.А. Drummond и коллеги накопили значительный объем доказательств в поддержку идеи о том, что каналы ENaC в ГМК артерий опосредуют миогенное сужение, вызванное давлением. Было обнаружено, что ГМК, ферментативно диспергированные из междолевых артерий почек мышей, экспрессируют транскрипты для всех трех субъединиц ENaC, более

того, сверхэкспрессия доминантно-негативных конструкций  $\gamma$ -субъединиц ENaC вызывала миогенную сосудистую вазоконстрикцию примерно в 60% случаев [84]. Таким образом необходимы дополнительные исследования генов, кодирующих  $\alpha$ - и  $\gamma$ - субъединиц ENaC, чтобы понять, распространяется ли изменение жесткости сосудов за пределы крупных проводящих артерий на более мелкие сосуды сопротивления.

В исследовании GenSalt, проведенном в 2014 году [42], ученые впервые установили, что SCNN1A (rs13306613) связан с повышением ДАД, а SCNN1B (rs12447134) – с повышением САД, а иные полиморфизмы в генах SCNN1A и SCNN1G с изменением и САД, и ДАД. Кроме того, SNV rs11064153 гена SCNN1A и rs4401050 гена SCNN1G были ассоциированы с высоким риском развития АГ и связаны с изменениями уровня САД [41, 42, 172], тем самым подчеркнув физиологическую значимость ENaC для генетического изучения сложного фенотипа гипертонии.

В 2017 году Международный консорциум по кровяному давлению GWAS (ICBP), завершив анализ более 200 000 субъектов, выявил 29 SNV, связанных с развитием АГ [136]. Оценка риска развития АГ была построена со всеми идентифицированными SNV: полученные данные играли прогностическую роль в развитии АГ [167].

В 2022 году В.М. Blobner и соавт. в своей научной работе доказал, что некоторые SNV генов SCNN1A и SCNN1B были связаны с ДАД и средним АД, однако указали, что несмотря на то, что уровень экспрессии SCNN1D в ткани почек снижен, SNV гена SCNN1D, тем не менее, были связаны и с САД, и с ДАД, и со средним, и с пульсовым давлением [191]. Таким образом, ENaC может участвовать в регуляции системного АД [151], а мутации в генах, кодирующих субъединицы ENaC (SCNN1A, SCNN1B, SCNN1G и SCNN1D), вызывают усиление/потерю функции канала, что приводит к моногенным формам гипертонии/гипотонии, что еще раз подчеркивает важность ENaC в регуляции АД [174].

Кроме участия ENaC в регуляции АД, эти каналы играют важную роль в других механизмах развития некоторых заболеваний человека. В последние годы

было обнаружено, что ENaC способствует активации иммунных клеток, что приводит к развитию муковисцидоза [154], дисфункции ЭК, псевдогипоальдостеронизму, усугублению воспаления, связанного с гипертонией, опухолям и нарушению вкусовых ощущений [219]. Гиперфункция ENaC повышает концентрацию внутриклеточного  $\text{Na}^+$  ( $[\text{Na}^+]_i$ ), что приводит к перегрузке внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$  из-за активации обменника  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ ; перегрузка внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$  является ключевым фактором воспаления, связанного с ENaC [197].

Роль ENaC в развитии моногенных форм АГ была продемонстрирована полным сцеплением гена, кодирующего  $\beta$ - и  $\gamma$ -субъединицы ENaC, с аутосомной формой тяжелой моногенной гипертензии — синдромом Лиддла [116]. Синдром Лиддла (СЛ) представляет собой аутосомно-доминантное заболевание, связанное с изменением функции ENaC, одним из типичных признаков СЛ является раннее начало. По данным крупнейшего ретроспективного анализа пациентов с СЛ, средний возраст дебюта АГ составляет  $15,5 \pm 3,3$  года [79]. Клинические проявления и лабораторные данные при СЛ неоднородны, что может затруднить его диагностику. Заболевание классически характеризуется тяжелой АГ, гипокалиемией и метаболическим алкалозом на фоне низкого уровня альдостерона и ренина [23, 41, 148]. Семейный анамнез в сочетании с ранней АГ и результатами лабораторных исследований может быть использован для выявления пациентов с подозрением на СЛ. На данный момент существует 29 мутаций, ассоциированных с СЛ [59], и почти все мутации удаляют или изменяют мотивы РУ и нарушают убиквитинирование канала, его интернализацию с клеточной поверхности и деградацию, что приводит к увеличению поверхностной экспрессии и гиперактивности каналов [58, 148].

Экспрессия ENaC также была обнаружена в эпителии языка и во вкусовых рецепторных клетках (TRCs) [224]. Некоторые исследования показывают, что ENaC в TRCs играет важную роль в системе рецепторов соленого вкуса [124, 210].

В просвете дыхательных путей нормальное функционирование ENaC необходимо для поддержания мукоцилиарного клиренса [177]. Повышенная

абсорбция жидкости, опосредованная ENaC, и мутации в гене CFTR (CFTR, *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*), связанная с недостаточной секрецией хлоридов, приводят к развитию такого заболевания как муковисцидоз [119]. CFTR и ENaC фактически регулируют гидратацию дыхательных путей, управляя, соответственно, секрецией и абсорбцией жидкости со сложным и до конца не изученным взаимодействием. Предположительно, CFTR оказывает ингибирующее действие на ENaC за счет комбинации сниженной средней вероятности открытия и сниженной экспрессии каналов на клеточной поверхности [105].

#### **1.4.2 Роль потенциал-зависимых натриевых каналов (Na<sub>v</sub>) в патофизиологии различных заболеваний**

Контролируя токи Na<sup>+</sup> через плазматическую мембрану клеток, Na<sub>v</sub>-каналы выполняют различные физиологические функции, такие как электрическая связь, сокращение мышц и кардиомиоцитов. Na<sub>v</sub> играют ключевую роль в генерации ПД и участвуют в поддержании гомеостаза, являясь важными компонентами физиологической активности, такой как пролиферация клеток [33, 156] или секреция гормонов [62].

В сосудистой сети Na<sub>v</sub>-каналы экспрессируются и генерируют Na<sup>+</sup> -токи как в ЭК, так и в ГМК сосудов [131]. Молекулярная идентификация субъединиц, составляющих функциональный потенциал-зависимый Na<sup>+</sup>-канал в ГМК, показала, что из 11 известных генов, в настоящее время идентифицированы только пять (т.е. SCN3A, SCN4A, SCN5A, SCN6A и SCN7A) [111]. Их участие в сократительной способности сосудов было продемонстрировано в брыжеечных артериях крыс [88]. Кроме того, исследования *in vitro* показали, что эндотелиальные Na<sub>v</sub>-каналы активируются изменением сдвига напряжения и участвуют в передаче сигналов VEGF-МАР-киназы (VEGF, *vascular endothelial growth factor*), связанных с васкулогенезом и ангиогенезом [34]. Наконец, сосудистые Na<sub>v</sub>-каналы определяют различные особенности сосудистой функции посредством связи с Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> (или

$\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  exchanger (NCX)) обменником, опосредуя вход ионов  $\text{Ca}^{2+}$  как в ГМК, так и в ЭК сосудов [221].

В 2002 году ряд авторов продемонстрировали, что  $\text{Na}_x$  действует как прямой молекулярный сенсор концентрации внеклеточного содержания  $\text{Na}^+$  [170]. При повышенном уровне  $\text{Na}^+$  канал  $\text{Na}_x$  активирует мембранный белок простагин, который участвует в регуляции ENaC, что приводит к активации данного канала [117], таким образом усиливается ток ионов  $\text{Na}^+$ . Интересно, что  $\text{Na}_x$ -каналы не зависят от изменения напряжения и вместо этого активируются после увеличения внеклеточной концентрации ионов  $\text{Na}^+$  в физиологических пределах, что приводит к последующей деполяризации мембраны [81, 171, 240].

В семействе потенциал-зависимых натриевых каналах существует особый ген SCN7A, обладающий специфическими характеристиками. Ионный канал  $\text{Na}_x$  (SCN7A): атипичный регулятор тканевого гомеостаза, который в отличие от членов своего молекулярного семейства утратил свой потенциал-зависимый характер и вместо этого быстро эволюционировал и приобрел новую функцию датчика, зависящего от концентрации внеклеточных ионов, что существенно отличается от остальных представителей семейства [235]. Первоначально этому гену были присвоены символы SCN6A и SCN7A, которые были картированы у человека и мыши соответственно. Скорее всего, они представляют один и тот же ген, и символ SCN6A, вероятно, будет удален.  $\text{Na}_x$  присутствует в эпителиальных тканях, а также описан в ГМК, формирующих стенки артерий и регулирующих диаметр сосуда, силу кровотока и давление [77, 245]. Учеными было доказано, что в ГМК артерий  $\text{Na}_x$  участвуют в контроле сосудистого тонуса [88]. В настоящее время все больше данных о том, что потенциал-зависимые натриевые каналы чувствительны к небольшим изменениям мембранного потенциала и обеспечивают ГМК эффективным механизмом повышения внутриклеточного уровня  $\text{Na}^+$  и таким образом  $\text{Ca}^{2+}$  через последующую  $\text{Na}^+$ -зависимую активацию обратного режима обменника  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  [88, 151, 248].

Потенциал-управляемые натриевые каналы являются важными детерминантами возбудимости сенсорных нейронов: они необходимы для



начальной передачи сенсорных стимулов, электрогенеза потенциала действия и высвобождения нейротрансмиттеров из окончаний сенсорных нейронов [102].

Дисфункция  $Na_v1.1$  каналов, которые экспрессируются в нейронах центральной нервной системы и связаны с изменениями их возбудимости, также имеет значение для различных неврологических расстройств, таких как детская эпилепсия [93], расстройство аутистического спектра [202], болезнь Альцгеймера [101]. Также высокий уровень экспрессии каналов  $Na_v1.1$  в периферических нейронах тройничного нерва может приводить к аномальной передаче ноцицептивных сигналов, что способствует развитию такого заболевания как гемиплегическая мигрень.

С тех пор, как в 2000 году была впервые изучена в роль гена *SCN1A*, кодирующего альфа-1 субъединицу натриевого канала, в развитии эпилепсии, ген *SCN1A* остается наиболее важным геном эпилепсии [106, 202]. Также наиболее исследуемыми генами, связанными с эпилепсией, являются *SCN2A*, *SCN3A* (расположенные на 2q24.3) и недавно изученный *SCN8A*, которые кодируют  $Na_v1.2$ ,  $Na_v1.3$  и  $Na_v1.6$  соответственно [106, 166]. Расстройства, связанные с *SCN2A*, включают умственную отсталость, судороги, эпизодическую атаксию и шизофрению [73, 76, 102]. Также известно, что *SCN3A*, экспрессирующийся в глиальных клетках мозга человека, недавно был признан геном, связанным с нарушением развития нервной системы и эпилепсией [120].

Однонуклеотидные варианты гена *SCN4A*, который кодирует  $\alpha$ -субъединицу натриевого канала скелетных мышц, связаны с развитием периодического гиперкалиемического паралича, характеризующегося приступами мышечной слабости и гиперкалиемией [179], также изучена их роль в развитии недистрофической миотонии [207]. В кардиомиоцитах предсердий и желудочков натриевый ток регулируется в основном сердечным потенциал-зависимым натриевым каналом  $Na_v1.5$  [109], который участвует в инициации и проведении ПД по всему миокарду. Экспрессия и функция канала  $Na_v1.5$  могут нарушаться из-за вариаций в геномной последовательности *SCN5A*. Например, синдром Бругада [144, 240], болезнь Лева-Ленегра (первичное склеродегенеративное двухстороннее

поражение ветвей пучка Гиса) [108] и синдром слабости синусового узла - являются некоторыми заболеваниями, вызванными потерей функции мутации в SCN5A. Однако, синдром удлинённого интервала QT3 [43] и мультифокальные эктопические преждевременные сокращения, связанные с волокнами Пуркинье, обусловлены мутациями, вызывающие изменение функции в SCN5A [109]. Наконец, сочетание мутаций усиления и потери функции связано с фибрилляцией предсердий [100] и дилатационной кардиомиопатией [165].

Полногеномные ассоциативные исследования показывают, что SCN10A играет важную роль в электрофизиологии сердца. Ионно-сердечные каналопатии относят к наследственным заболеваниям, которые повышают риск развития спонтанной желудочковой тахикардии или фибрилляции и внезапной сердечной смерти при отсутствии структурного заболевания сердца [188]. Предполагается, что распространенные и редкие варианты SCN10A в интроне (rs10428132) способствуют синдрому Бругада, наследственной каналопатии, возникающей в результате генетически детерминированной потери функции натриевого канала сердца (положительный сдвиг в стационарной активации и замедленное восстановление после инактивации) за счет влияния на SCN5A [75, 76].

Кроме того, потенциал-зависимые натриевые каналы присутствуют в раковых клетках, например, в клетках рака толстой кишки, молочной железы, предстательной железы и немелкоклеточного рака легких. Этот вклад  $Na_v$  в злокачественность рака и устойчивость опухолей к химиотерапевтическим препаратам стал предметом исследований. Тем не менее, конкретные механизмы, лежащие в основе функционирования  $Na^+$ -каналов, влияющих на эти изменения в раковых клетках, все еще неясны и нуждаются в дальнейшем изучении [228].

### **1.5 Мембранная теория как основа артериальной гипертензии**

В настоящее время сделаны первые шаги на пути выяснения конкретных механизмов вовлечения мембранных нарушений в патогенез ЭГ, получены данные

о молекулярной природе мембранных нарушений, и охарактеризована мембранная теория ЭГ [244].

Неудачные поиски единой причины АГ привели к формированию представления о ней как о болезни «регуляции», что нашло наиболее полное отражение в мозаичной теории ЭГ [183]. Согласно этой концепции, артериальная гипертензия возникает как следствие комбинации различных нарушений в частных системах регуляции АД. Тем самым постулируется многопричинность этого заболевания, а вопрос о конкретной причине нарушений в каждом отдельном случае остается открытым.

В последние годы происходит быстрое накопление фактов, которые дают основание полагать, что истоки первичной АГ восходят к распространенным нарушениям функции клеточных мембран в отношении регуляции концентрации свободного цитоплазматического кальция и трансмембранного транспорта моновалентных катионов. Мысль, высказанная еще в 1975-1977 г. Ю.В. Постновым в наше время получила основательное фактическое подтверждение, о том, что первичная гипертензия имеет прямую связь с нарушением мембранной функции [14].

Исследование клеточных мембран эритроцитов позволили экспериментально выйти «за пределы» собственно сосудистой стенки при изучении механизмов развития АГ.

Однако, до сих пор, нет единого механизма, объясняющего связь между изменениями свойств мембраны эритроцитов и АГ. Существуют лишь предположения, что текучесть мембраны (как важный фактор в модуляции реологического поведения клеток) может быть изменена различными факторами, такими как компоненты мембраны, белки цитоскелета, внутриклеточное содержание  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Na}^{+}$  и др. Изменения текучести мембраны и микровязкости также могут влиять на проницаемость мембраны, транспортные системы, функции рецепторов или активность ферментов [244].

Недавние исследования продемонстрировали, что повышенный ток ионов  $\text{Na}^{+}$ , является особой характеристикой нейтрофилов у пациентов с АГ, т.к. при

данной патологии большая часть нейтрофилов находится в активированном состоянии [123]. Известно, что механизм развития хронического воспаления тесно связан с возникновением и развитием гипертонии [157], однако этапы этого механизма до сих пор обсуждаются [122, 236]. В течение последних 50 лет активно исследуется вклад как врожденной, так и адаптивной иммунной системы в патогенез АГ. Эффекторными клетками врожденной иммунной системы являются нейтрофилы — это полиморфноядерные гранулоциты, которые представляют собой наиболее распространенные лейкоциты в крови, составляя около 70% всех лейкоцитов. В течение многих лет нейтрофилы считались гомогенным типом популяции клеток с довольно базовыми функциями и ограниченной универсальностью. Однако накопленные за последнее десятилетие данные свидетельствуют о значительно более высокой гетерогенности и универсальности популяций нейтрофилов с точки зрения морфологии, фенотипа и функции [36, 114]. Одной из таких популяций являются так называемые нейтрофилы низкой плотности (LDN, low-density neutrophils), которые составляют гетерогенную популяцию, первоначально обнаруженную у пациентов с системной красной волчанкой, а позже и при многих других воспалительных и аутоиммунных заболеваниях [61]. Термин «гранулоцит низкой плотности» используется для описания популяции гранулоцитарных миелоидных клеток, выделенных из мононуклеарного слоя периферической крови после центрифугирования в градиенте плотности. Нейтрофилы низкой плотности были впервые идентифицированы в мононуклеарных клетках периферической крови у пациентов с различными воспалительными, опухолевыми и аутоиммунными заболеваниями [206], однако на данный момент существует очень мало исследований о нейтрофилах у больных АГ. Поэтому изучение нейтрофилов, особенно разновидности нейтрофилов, имеет большое значение в области сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваний. Важным является то, что субпопуляции нейтрофилов нормальной плотности (NDN) и LDN в периферической крови пациентов с хроническим воспалением, связанным с АГ, демонстрировали более высокие уровни тока ионов  $\text{Na}^+$  [123].

После активации цитоплазматические гранулы нейтрофилов высвобождают свое содержимое из клетки, например, комплекс Mac-1 (CD11b/CD18), содержание которого увеличивается в 5-10 раз на поверхности клетки. Это семейство гликопротеинов имеет основополагающее значение для широкого спектра функций нейтрофилов, зависящих от адгезии, модулируя, таким образом, клеточную адгезию, миграцию и фагоцитоз. Вместе с тем, популяции LDN и гладкомышечные клетки артериол имеют одинаковый фенотип по экспрессии CD-14 (гликозилфосфатидилинозитол-закрепленного белка клеточной поверхности) [55, 208]. В исследовании D. Kling [163] описана роль мононуклеарных лейкоцитов в миграции ГМК на модели кролика с электростимуляцией сонной артерии. Полученные результаты указывают на то, что мононуклеарные лейкоциты стимулируют миграцию ГМК, опосредованную через молекулы клеточной адгезии (ICAM-1 и/или VCAM-1), которые экспрессируются в ГМК. ГМК доминирующий тип сосудистых клеток, которые обеспечивают механическую поддержку и вазоактивные реакции в сосудистом гомеостазе, нарушение которых приводит к различным васкулопатиям [137, 218]. В физиологических условиях ГМК имеют сократительный фенотип, который способствует сокращению и расширению сосудистой сети, что в более мелких резистивных артериях является ключевым фактором в регуляции кровотока. Кроме того, особенностью нейтрофилов является наличие сократительного аппарата (наличие миофиламентов актина и миозина) [168, 223]. Известно, что актиновый цитоскелет является важным регулятором ENaC, который действует либо связываясь с ENaC, либо с  $\alpha$ -спектрином и анкирином [92], что может говорить о их функциональном сходстве с ГМК и участии в регуляции сосудистого тонуса. Интересно, что ГМК обладают макрофагоподобными свойствами, присущи им из-за их схожих поверхностных маркеров и функций с макрофагами [69, 129].

Можно предположить, что при ЭГ проницаемость плазматической мембраны для  $\text{Na}^+$  обусловлена либо увеличением скорости работы, либо увеличением скорости диффузии натрия по ион-селективным каналам. Кроме того, так как концентрация  $\text{Na}^+$  в цитоплазме в 10-20 раз меньше, чем во внеклеточной жидкости

( $[Na^+]_e=130-140$  ммоль/л,  $[Na^+]_i=10-20$  ммоль/л), нарушения в механизмах переноса могут привести к увеличению концентрации внутриклеточного натрия. Эти данные поднимают интригующий вопрос о том, какой существует механизм восстановления ионного дисбаланса  $Na^+$ ? Существует АТФ-аза, которая является важным ферментом, обнаруженным в плазматической мембране всех клеток животных. Её основополагающая роль заключается в транспорте ионов  $Na^+$  и  $K^+$  через клеточную мембрану (каждая функциональная единица  $Na^+/K^+$ -АТФазы вытесняет три иона  $Na^+$  и импортирует два иона  $K^+$  за один цикл при скорости приблизительно 200 циклов в секунду), используя химическую энергию гидролиза АТФ, и поддержании неравновесного распределения ионов  $Na^+$  и  $K^+$  между внеклеточной жидкостью и цитоплазмой. Хотя роль  $Na^+/K^+$ -АТФазы, как насоса, была открыта несколько десятилетий назад, она до сих пор остается предметом современных научных исследований [173]. В настоящее время существует два основных взгляда на регуляторную роль  $Na^+/K^+$ -АТФазы в функционировании клеток и экспрессии белков: традиционный взгляд, основанный на контроле внутриклеточного ионного гомеостаза и механизм, зависящий от внутриклеточной передачи сигнала. Эти два различных регуляторных пути, по-видимому, интегрируются друг с другом, хотя это остается предметом дискуссий.

В сосудистой стенке  $Na^+/K^+$ -АТФаза играет важную роль в контроле сосудистого тонуса.  $Na^+/K^+$ -АТФаза действует как рецептор, передающий гуморальные сигналы внутриклеточно. Наблюдение за тем, что существует корреляция между метаболизмом  $Na^+$  и общим периферическим сопротивлением сосудов (ОПСС), привело к гипотезе, впервые предложенной в 1953 году Blaustein М.Р. [56] и продемонстрированной Hamlyn J.M. [21], о том, что образцы человеческой плазмы содержат циркулирующие биологически активные ингибиторы  $Na^+/K^+$ -АТФазы. Далее было показано, что один из них является стероидным изомером убаина (эндогенный убаин), который секретируется корой надпочечников под контролем адреналина и ангиотензина II [203]. Ученые предполагают, что именно присутствие циркулирующего ингибитора  $Na^+/K^+$ -АТФазы обуславливает описанное ранее увеличение содержания  $Na^+$  в лейкоцитах

у больных АГ. Hamlyn J.M. и соавт. в 1982 г. [21] установили, что депротеинезированная плазма больных АГ на 14% уменьшает активность очищенного препарата  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы. Плазма, полученная от людей с нормальным АД, не модифицировала активность  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы. Интересно, что сигнальный путь, запускаемый эндогенным убаином, в котором  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФаза действует как рецептор, вызывает колебательные изменения внутриклеточного кальция, который при активации рианодиновых рецепторов высвобождает  $\text{Ca}^{2+}$  из эндоплазматического ретикула [35]. Последующее высвобождение  $\text{Ca}^{2+}$  и повышение концентрации цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  активируют цикличность поперечных мостиков и обеспечивают развитие мышечного сокращения. Таким образом,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФаза сложным образом вовлечена в возбуждение мембраны, что является предпосылкой для сокращения мышц [20].

Анализ данных, приведенных выше, позволяет рассматривать изменение структурного состояния плазматической мембраны при первичной гипертензии в качестве основной причины нарушения большинства ее катионтранспортных функций. Так, например, изменение функционирования белковых субъединиц могут, вероятно, явиться причинами увеличения скорости транслокации переносчиков одновалентных ионов, осуществляющих  $\text{Na}^+$  и  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  транспорт, а также  $\text{Ca}^{2+}$ -обменников. Наиболее значительным внутриклеточным ионным изменением, которое является результатом частичного, но нетоксичного ингибирования  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы, является повышение  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ , которое, как известно на протяжении десятилетий, является причиной положительного инотропного действия соединения наперстянки, такого как убаин [254].

На сегодняшний день большая часть работы по передаче сигнала  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазой была выполнена на сердечных миоцитах. Известно, что изменения  $[\text{Na}^+]_i$  или  $[\text{K}^+]_i$ , вызванные иными способами, нежели ингибирование или активация  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы, влияют на внутриклеточные сигнальные пути; например, повышение  $[\text{Na}^+]_i$ , вызванное грамицидином, активирует стресс-активируемую протеинкиназу [234]. Важный вопрос заключается в том, могут ли изменения  $[\text{Na}^+]_{in}$  и  $[\text{K}^+]_{in}$  в миоцитах также вызывать ингибирование транспортной функции

$\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы через последовательные биохимические реакции, осуществляемые ферментами, как это делает  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  в кардиомиоцитах. На этот вопрос невозможно ответить, так как в миоцитах, на плазматической мембране которых содержится высокоактивный  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменник, ингибирование  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы вызывает увеличение  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  с небольшим изменением  $[\text{Na}^+]_i$  и  $[\text{K}^+]_i$ , а более высокие уровни ингибирования приводят к потере жизнеспособности из-за перегрузки  $\text{Ca}^{2+}$  до того, как будут получены и поддержаны значительные изменения  $[\text{Na}^+]_i$  или  $[\text{K}^+]_i$  [60]. Большинство экспериментов, описанных выше, проводились с конечными концентрациями внутриклеточного натрия 100 мМ и выше. Это очень важно учитывать, поскольку молекулы  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы, которые уже присутствуют на плазматической мембране, могут легко справляться с небольшими изменениями концентрации  $[\text{Na}^+]_i$ . Исследования А.Р. Cinelli и соавт. [72] указывают на то, что увеличение внутриклеточной концентрации натрия на несколько миллимоль приводит к повышению активности  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы без статистически значимого увеличения числа молекул  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы плазматической мембраны, что определяется биотинилированием белков клеточной поверхности. Увеличение внутриклеточной концентрации  $\text{Na}^+$  вызывает повышенную колокализацию дофаминовых рецепторов  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы в области плазматической мембраны [48].

Таким образом, высвобождение надпочечниковых эндогенных соединений, подобных убаину, ингибирующих активность  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы, приводит к повышению  $[\text{Na}^+]_i$  и  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  в клетках гладких мышц сосудов, тем самым повышая тонус сосудов с соответствующим повышением АД. Механизмы, посредством которых эти гомеостатические процессы интегрируются, сложны и не полностью выяснены. Однако недавние научные открытия дают новые идеи, которые могут предложить дополнительные пути для дальнейшего изучения молекулярных механизмов, связанных с патофизиологией различных форм АГ.

Полногеномные ассоциативные исследования выявили редкие SNV, влияющие на 26% вариабельности АД в общей популяции, что является важным и



независимым фактором поражения органов-мишеней и высокого риска развития ССЗ.

Однако большинство однонуклеотидных вариантов генов ионных натриевых каналов не охарактеризовано, и их функциональные свойства остаются неизвестными. В настоящее время найдены ответы лишь на некоторые вопросы, которые также еще нуждаются в углублении и расширении полученных данных. В связи с чем представляется актуальным комплексное изучение генетических маркеров, влияющих на функционирование ионных натриевых каналов, что позволит выявить индивидуальную предрасположенность здоровых индивидов к развитию артериальной гипертензии.

В связи с этим, теоретический и практический интерес представляет поиск генетических предикторов, влияющих на восприимчивость и особенности течения патологического процесса [13]. Это позволит значительно расширить представления о патогенезе АГ.

Взрыв генетических открытий в результате геномных исследований (GWAS, исследования экзома и всего генома), вероятно, станет катализатором новой эры в профилактике, выявлении и лечении АГ. Таким образом, значимым в решении задач по предупреждению и снижению заболеваемости АГ, а также смертности от сердечно-сосудистых катастроф является проведение научных генетических исследований для разработки персонифицированных программ первичной профилактики АГ.

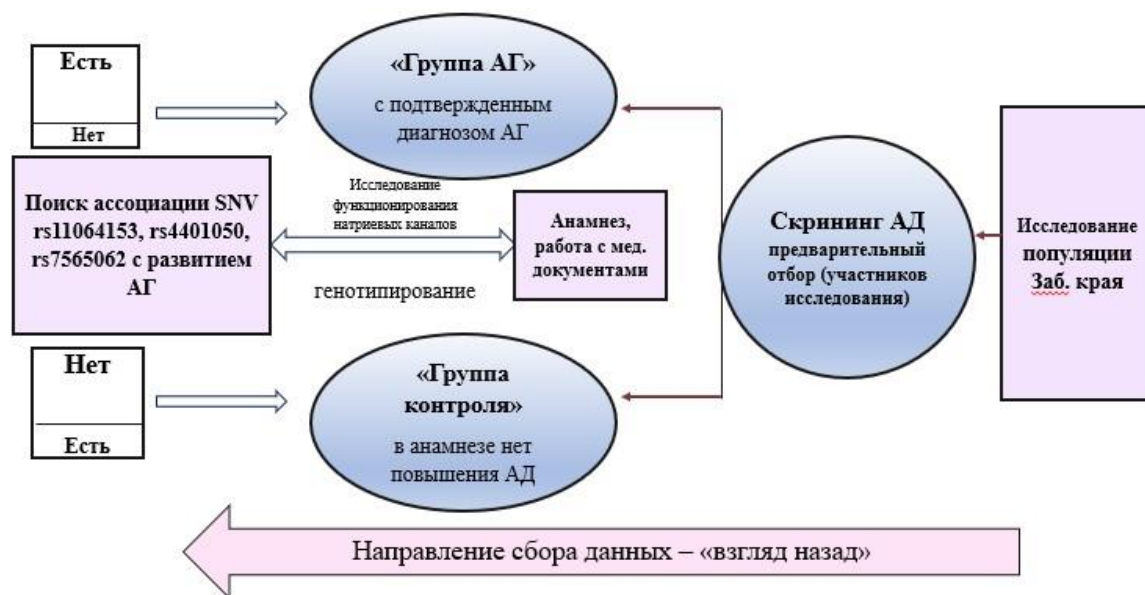
## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Общая схема исследования

Исследование проведено с соблюдением принципов Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ред. 2013 г.) и одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (протокол № 92 от 29.10.2018 г.). Перед проведением исследования всеми участниками было подписано информированное согласие, подтверждающее возможность проведения генетического и молекулярного анализа.

Для расчета размера исследуемой выборочной совокупности, корректно отражающей генеральную совокупность людей, европеоидной расы, родившихся и проживающих на территории Забайкальского края (908 302 человек по данным Федеральной службы государственной статистики), требуется минимальный размер необходимой выборки равный 208 человек (в данное исследование включено 241 человек), при уровне надежности 85 % и погрешности 5% [1].

Проведенные нами исследования были осуществлены на базе Поликлинического подразделения №5 Государственного автономного учреждения здравоохранения «Клинический медицинский центр г. Читы», кардиологических отделений Государственного учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница № 1» и Частного учреждения здравоохранения «Клиническая больница «РЖД-Медицина» г. Чита». В работе представлены результаты исследования за период с 2018 по 2023 гг. По результатам предварительного обследования было отобрано 534 пациента, из которых всем требованиям отбора для данного исследования соответствовали 241 человек (рисунок 14).



**Рисунок 14.** Дизайн исследования

Дизайн исследования построен по принципу «случай-контроль». В соответствии с целью и задачами данного исследования был предусмотрен 2-х этапный характер выполнения. Все обследованные – проживающие на территории Забайкальского края, представители европеоидной расы.

На I этапе проведено скрининговое обследование пациентов с диагнозом Эссенциальная артериальная гипертензия на амбулаторном приеме в условиях поликлиники или во время госпитализации. Были подробно изучены амбулаторные карты и/или медицинские карты стационарных больных (все имеющиеся записи об уровнях АД в настоящем и прошлом, сведения о приеме антигипертензивных препаратов), анамнеза заболевания (семейный анамнез, касающийся АГ, ССЗ, инсультов или заболеваний почек; дебют, стаж, включая данные о любых предшествующих обследованиях, госпитализациях и др.), клиническая характеристика течения осложнений и факторов риска заболевания, результаты лабораторных и инструментальных методов исследования.

Контрольную группу составили 106 практически здоровых лиц, без эпизодов повышения АД в анамнезе, не принимающих антигипертензивные и какие-либо другие лекарственные препараты.

На II этапе для разработки прогностической модели развития АГ на основе молекулярно-генетических предикторов проведен поиск ассоциаций изучаемых

однонуклеотидных вариантов (SCNN1A (rs11064153), SCNN1G (rs4401050), SCN7A (rs7565062)) генов натриевых каналов на изменение внутриклеточного содержания ионов Na<sup>+</sup>.

Лабораторные и инструментальные методы исследования проводились на базах лаборатории молекулярной генетики, экспериментальной и клинической биохимии Научно-исследовательского института молекулярной медицины «Читинской медицинской академии» Минздрава России, Поликлинического подразделения №5 Государственного автономного учреждения здравоохранения «Клинический медицинский центр г. Читы», кардиологических отделений Государственного учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница № 1» и Частного учреждения здравоохранения «Клиническая больница «РЖД-Медицина» г. Чита».

### **2.1.1 Клиническая характеристика пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией**

*Критериями включения в исследование служили:*

- наличие у пациентов подтвержденного диагноза Эссенциальная артериальная гипертензия, установленного в молодом возрасте от 18 до 44 лет (согласно принятой классификации возраста по данным ВОЗ) [252];

- подписанное информированное согласие на участие в исследовании и обработку личных данных.

**Критерии исключения из исследования следующие:**

1. Пациенты со специфическими признаками, свидетельствующими о возможном вторичном генезе АГ (согласно клиническим рекомендациям):

а) развитие АГ 2-й или 3-й степени в молодом возрасте (до 44 лет);

б) указания на заболевания почек/мочевыводящего тракта или внезапное развитие АГ, или быстрое ухудшение течения АГ в анамнезе;

в) сопутствующая терапия на момент исследования: кортикостероидами, назальными вазоконстрикторами, химиотерапия, употребление оральных контрацептивов;

г) повторяющиеся эпизоды потливости, головной боли, тревоги или сердцебиений, дающие возможность заподозрить феохромоцитому;

д) указание на эпизоды спонтанной или спровоцированной диуретиками гипокалиемии, приступы мышечной слабости или судорог (гиперальдостеронизм) в анамнезе;

е) признаки заболеваний щитовидной или паращитовидных желез;

ж) указания в анамнезе на синдром ночного апноэ.

2. Пациенты с III стадией течения артериальной гипертензии;

3. Пациенты с нарушениями ритма, врожденными и приобретенными пороками сердца, сахарным диабетом, муковисцидозом, хроническими болезнями почек и другими воспалительными и эндокринными заболеваниями;

4. Беременные женщины;

5. Пациенты с ожирением;

6. Пациенты, в настоящее время находящиеся на диете с низким содержанием натрия (поваренной соли) в рационе питания.

Основной клинический диагноз выставлялся в соответствии с критериями раздела I10.0 по МКБ-10 («Эссенциальная [первичная] гипертензия»). Верификацию диагноза АГ проводили согласно рекомендациям Европейского общества кардиологов (ЕОК, ESC) и Европейского общества по АГ (ЕОАГ, ESH), 2018 года [7], где 1 степень АГ соответствует САД 140–159, ДАД 90–99 мм рт. ст., 2 степень — САД 160–179, ДАД 100–109 мм рт. ст., 3 степень — САД  $\geq$  180, ДАД  $\geq$  110 мм рт. ст. [7]. Таким образом, ЭГ диагностировалась в случае, если офисное значение САД  $\geq$  140 мм рт.ст. и/или ДАД  $\geq$  90 мм рт.ст., измеренных на нескольких приемах у врача и подтвержденных при суточном мониторинге АД.

В соответствии с действующими клиническими рекомендациями АГ классифицировали по степени, которая определяется уровнем АД; стадии, которая основана на наличии поражения органов-мишеней, ассоциированных клинических

состояний, сахарного диабета, хронической болезни почек и ассоциированных клинических состояний. Всем пациентам с АГ проведена оценка общего сердечно-сосудистого риска по шкале SCORE-2 для лиц в возрасте от 40 до 69 лет.

Пациентов, включенных в исследование, с I-й стадией АГ выявлено 57% (77/135), со II-й стадией – 43% (58/135). По степени повышения АД пациентов с 1-й степенью зарегистрировано 57% (77/135), со 2-й степенью – 35,6% (47/135), с 3-й степенью – 7,4% (10/135). При оценке сердечно-сосудистого риска, в соответствии со шкалой SCORE-2, риск 1 был определен у 30,4% (24/135), риск 2 у 31,1% (59/135) и риск 3 у 38,5% (52/135) пациентов с АГ (рисунок 15). Пациенты с III стадией АГ и очень высоким риском (риск 4) в исследование не включались, так как при данной стадии определяется наличие ассоциированных клинических состояний, в том числе ХБП С4-С5 стадии и/или сахарного диабета с поражением органов мишеней, что являлось критерием исключения из данного исследования. Таким образом, пациенты в группе АГ сопоставимы по степени, стадии и риску развития АГ, поэтому они объединены и рассматриваются как одна группа.

### **2.1.2 Сравнительная характеристика групп здоровых и больных артериальной гипертензией**

Всего в исследовании «случай-контроль» включен 241 участник, из них 135 пациентов с АГ и 106 контрольных лиц. В таблице 3 приведены основные характеристики исследуемых групп.

## Основные показатели группы контроля и пациентов с АГ

Исследуемый показатель	Исследуемая группа		Тестовая статистика, Манна-Уитни
	Группа контроля, n=106	Группа АГ, n=135	
Возраст, лет	43,0 (33,8; 48,0)	44,0 (39,0; 50,0)	U=6162,5, p=0,064
Рост, м	1,71 (1,64; 1,78)	1,72 (1,65; 1,78)	U=7063,5, p=0,865
Вес, кг	74,0 (69,8; 80,5)	78,0 (72,0; 85,0)	U=6110,0, p=0,052
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	21,6 (20,6; 23,3)	22,7 (20,9; 24,4)	U=5959,0, <b>p=0,026</b>
САД, мм рт. ст.	120,0 (110,0; 120,0)	150,0 (140,0; 160,0)	U=2,0, <b>p&lt;0,001</b>
ДАД, мм рт. ст.	70,0 (70,0; 75,0)	90,0 (90,0; 100,0)	U=442,5, <b>p&lt;0,001</b>
Пульсовое давление, мм рт. ст.	45,0 (40,0; 50,0)	60,0 (50,0; 70,0)	U=32,0, <b>p&lt;0,001</b>
Среднее АД, мм рт. ст.	87,0 (83,0; 91,0)	110,0 (107,0; 117,0)	U=1683,5, <b>p&lt;0,001</b>

**Примечание:** **n** – количество исследуемых, **САД** – систолическое артериальное давление, **ДАД** – диастолическое артериальное давление, **U** – критерий Манна-Уитни; **p** – уровень статистической значимости.

При сравнении показателей в исследуемых группах были установлены статистически значимые различия САД, ДАД, пульсового и среднего АД ( $p < 0,001$ ). Средний возраст дебюта заболевания исследуемой группы составил 39,0

(30,0; 40,0) лет, стаж заболевания – 10,0 (5,0; 18,0) лет. Группы были сопоставимы по полу ( $\chi^2=2,9$ ;  $df=1$ ;  $p=0,089$ ), число мужчин в группе контроля – 52,8% (56/106), в группе пациентов с АГ – 63,7% (86/135) и возрасту ( $p=0,064$ ).

## **2.2 Методы исследования**

### **2.2.1 Общее клиническое обследование**

В дополнение общеклиническому обследованию, которое включало полный сбор анамнеза и физикальное обследование, всем пациентам было проведено комплексное лабораторное и инструментальное исследование, а именно: клинические анализы крови и мочи, биохимические анализы крови (мочевина, креатинин, общий холестерин, глюкоза крови), ЭКГ, рентгенография органов грудной клетки, ультразвуковое исследование почек/надпочечников и офтальмоскопия глазного дна.

### **2.2.2 Молекулярно-генетический метод исследования**

Молекулярно-генетические исследования выполнены в лаборатории НИИ Молекулярной генетики ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России. Забор материала осуществлялся однократно, в качестве объекта исследования выступали цельная кровь, а также клетки буккального эпителия человека.

Образцы крови были получены при кубитальной венопункции в утренние часы с 8.00 до 10.00, натощак в пробирки-вакутейнеры в стерильных условиях. Цельную кровь (4 мл) собирали в пробирку с этилендиаминтетрауксусной кислотой для генетического анализа. Образцы ДНК хранили при  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  до анализа. Анализу подвергалась геномная ДНК, выделенная из лейкоцитов цельной



крови с помощью реагента «Проба Рапид» производства ООО «ДНК-Технология» (г. Москва). Определение генетического однонуклеотидного варианта гена проводили при помощи наборов реагентов: SCNN1A (rs11064153), SCN7A (rs7565062), SCNN1G (rs4401050) методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени производства компании ООО «Тест Ген» (г. Ульяновск). Суммарный объем ПЦР 10 мкл реакционного образца содержал: 3 мкл деионизированной воды, 4 мкл смеси для ПЦР, 2 мкл Tag-полимеразы и 1 мкл исследуемого очищенного образца ДНК, в формате 96-луночного планшета.

Для выделения ДНК из буккального эпителия использовались растворы из набора «РИБО-сорб». Данный метод включал в себя следующие этапы: стерильной ватной палочкой брали мазок с внутренней поверхности щеки слизистой оболочки ротовой полости, помещали в 150 мкл ТЕ-буфера и ополаскивали в нем палочку несколько раз. Жидкость отбирали и переносили в стерильный эппендорф, добавляли 20 мкл сорбента, перемешивали на вортексе и оставляли на 5 мин при 60 °С. Затем раствор центрифугировали 1 мин при 13000 об/мин, удаляли 2/3 надосадочной жидкости, к оставшемуся объему добавляли 400 мкл лидирующего буфера и перемешивали на вортексе. Центрифугировали 30 с при 13000 об/мин, приливали в пробирки по 800 мкл раствора для отмывки, перемешивали на вортексе до полного ресуспендирования сорбента, центрифугировали 30 с при 10000 об/мин и удаляли надосадочную жидкость. Пробирки помещали в термостат на 60 °С на 10-15 мин для подсушивания сорбента, затем приливали 80 мкл ТЕ-буфера.

Аmplификацию и детекцию участков гена выполняли на амплификаторе ДТ-96 (Москва, Россия). Считывание сигнала флуоресценции с каналов детекции HEX и FAM производили на стадии отжига праймеров (54 °С до 62 °С); при этом программное обеспечение прибора представляло первичные данные в виде диаграммы распределения аллелей. О наличии в пробе одной или другой аллели судили по отношению уровней флуоресценции от обоих зондов. Программное обеспечение представляло результаты генотипирования в виде распределения аллелей. На основании указанных данных при помощи программы были

выстроены кривые накопления флуоресцентного сигнала для каждого образца. Результаты анализа позволили дать три типа заключений: гомозигота по аллели 1; гетерозигота; гомозигота по аллели 2 (таблица 4).

Таблица 4.

#### Интерпретация результатов ПЦР

Результат	Канал	Интерпретация результатов ПЦР
Аллель 1	FAM	гомозигота по аллели 1
Аллель 1 + Аллель 2	FAM+HEX	гетерозигота
Аллель 2	HEX	гомозигота по аллели 2

### 2.2.3 Проточная цитометрия и определение содержания $\text{Na}^+$ в лейкоцитах

Нами был применен метод визуализации ионов  $\text{Na}^+$  внутри нейтрофилов низкой плотности (LDN, low-density neutrophils) с использованием методики фиксации уровня средней интенсивности флуоресценции MFI (MFI, *mean fluorescent intensity*), измеряемой в RFU (RFU, *relative fluorescence units*) [193] по методике предложенной D. Cerecedo и соавт. [123] в модификации ведущего научного сотрудника лаборатории экспериментальной и клинической биохимии и иммунологии НИИ молекулярной медицины ФГБОУ ВО "ЧГМА", к.м.н. П.П. Терешкова.

Вариативность внутриклеточного содержания ионов  $\text{Na}^+$  в популяции LDN, возможно экстраполировать на клетки гладкомышечной клетки артериол, учитывая их одинаковый фенотип по экспрессии CD-14 [55, 208].

Образцы крови были получены при кубитальной венопункции в утренние часы с 8.00 до 10.00, натошак в 2 пробирки с ЭДТА по 9 мл, которые доставлялись в лабораторию в течение 30-40 минут от момента забора.

Исследование проводили на популяциях нейтрофилов, выделенных на градиенте плотности 1077/1119. Клетки культивировали в среде RPMI 1640 (Биолот, Россия) с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки (Hy Clone Standard, США) при 37 °C и 5% CO<sub>2</sub>. Клетки выращивали до плотности 1x10<sup>6</sup> клеток на мл и обрабатывали 10 мкМ о-уабаином (Sigma-Aldrich) или 1 мкМ STS (Sigma-Aldrich) в течение указанного времени. Грамицидин (из *Bacillus aneurinolyticus*) и амфотерицин В (AmB) были получены от Sigma-Aldrich и были приготовлены в виде исходных растворов в ДМСО в концентрации 1 мМ и 3 мМ соответственно. Na<sup>+</sup>-специфический флуоресцентный краситель Asante Natrium Green-2 AM ester (ANG-AM) был получен от Teflabs (Austin, TX, Cat. No. 3512), распространяемый Abscam под названием ION NaTRIUM Green™-2 AM (ab142802). Здесь 5 мкМ Gram добавляли на 30 мин, 60 мин, 120 мин одновременно с ANG, а 15 мкМ AmB добавляли в течение последних 15 мин 30-минутной нагрузки ANG. Клетки обрабатывали ANG-AM и Gram в стандартной среде RPMI 1640 с сывороткой с концентрацией ионов Na<sup>+</sup> 137 мМ.

Исходный раствор 2,5 мМ ANG-AM готовили в ДМСО + 10% Pluronic (50 мкг ANG-AM растворяли в 10 мкл ДМСО и смешивали 1:1 с 20% (w/v) исходным раствором Pluronic F-127 в ДМСО). После промежуточного разбавления в PBS ANG-AM добавляли непосредственно в среду с культивируемыми клетками до конечной концентрации 0,5 мкМ. Инкубацию клеток с ANG-AM проводили в течение 30 мин при комнатной температуре (~23°C). Окрашенные клетки анализировали на проточном цитометре CytoFLEX LX (Beckman Coulter, Inc., CA). Флуоресценцию ANG возбуждали с помощью лазера длиной волны 488 нм, а излучение детектировали в канале PE с помощью полосового фильтра 585/42 нм (обозначенного ниже на рисунках как ANG, PE). Все флуоресцентные гистограммы были получены при тех же настройках цитометра для минимум 10 000 клеток. Популяция клеток P1 была выделена с помощью FSC/SSC (прямое рассеяние/боковое рассеяние) с порогом, установленным на 1×10<sup>4</sup> для исключения большинства микрочастиц и детрита. Использовалась область (A) параметров проточного цитометра (FSC-A, SSC-A, PE-A).

### **2.3 Инструментальный метод исследования**

Измерение артериального давления. Всем испытуемым при визите в медицинское учреждение проводилось не менее двух измерений уровня АД с интервалом 1-2 минуты и еще одно дополнительное, при разнице между первыми двумя более 10 мм рт. ст. Измерение АД проводилось на обеих руках с использованием механического сфигмоманометра с манжетой, соответствующей по размеру окружности плеча пациента. Манжета располагалась на уровне сердца, при этом была обеспечена поддержка спины и руки пациента для избегания мышечного напряжения и изометрической физической нагрузки, приводящей к повышению АД. Уровень АД определялся как среднее из последних двух измерений и классифицировался как оптимальное, нормальное, высокое нормальное давление или АГ 1-3 степени.

### **2.4 Методика анализа результатов исследования**

Данное исследование сопровождалось оформлением первичной медицинской документации, включающей разработку индивидуальной «Регистрационной карты пациента с эссенциальной артериальной гипертензией».

В протокол исследования помимо анамнестических и клинических аспектов заболевания входили результаты лабораторно-инструментальных методов исследования, на основании которых был создан электронный банк данных, содержащий сведения о каждом пациенте.

## 2.5 Методы статистической обработки полученных результатов

При проведении статистического анализа использовались рекомендации «Алгоритмы статистического анализа данных биомедицинских исследований с помощью пакета программ SPSS» [9].

База данных формировалась с использованием программы MS Excel 2019 (Microsoft Office). Также применяли онлайн калькуляторы: «Калькулятор для расчета статистики в исследованиях «случай–контроль» и Hardy-Weinberg equilibrium calculator including analysis for ascertainment bias [5].

Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Учитывая распределение признаков, отличное от нормального на всех этапах исследования, полученные данные представлены в виде медианы, первого и третьего квартилей: Me (Q1; Q3). Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. Ранговый анализ вариаций по Краскелу–Уоллису (H) применялся для сравнения трех и более независимых групп по одному количественному признаку. Сравнение двух групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью U-критерия Манна-Уитни (U). Во всех случаях  $p < 0,05$  считали статистически значимым.

Проведена оценка подчинения распределения генотипов выборок равновесию Харди–Вайнберга. Для сравнения частот генотипов и аллелей использовали критерий  $\chi^2$ -Пирсона. Для оценки ассоциаций однонуклеотидных вариантов генов с патологическим фенотипом рассчитывали показатель отношения шансов (ОШ) с расчетом для него 95% доверительного интервала (ДИ). Величина ОШ=1 указывала на отсутствие ассоциации, ОШ>1 на положительную ассоциацию «фактора риска» и, ОШ<1 на отрицательную ассоциацию аллели с заболеванием. Наиболее значимые параметры исследования включались в тестовые базы данных, которые легли в основу обучения многослойного персептрона. В качестве функции активации в скрытом слое выступал гиперболический тангенс, в выходном слое –

Softmax, в качестве ошибки – перекрестная энтропия. Диагностическая ценность прогностических моделей, основанных на нейросетевом анализе, определялась путем применения ROC-анализа.

Статистическая обработка результатов исследования выполнена с использованием пакета программ «IBM SPSS Statistics Version 25.0» (International Business Machines Corporation, license No. Z125-3301-14, США).

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3.1 Оценка функции натриевых ионных каналов в соответствии с внутриклеточным содержанием ионов натрия у пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией и здоровых лиц

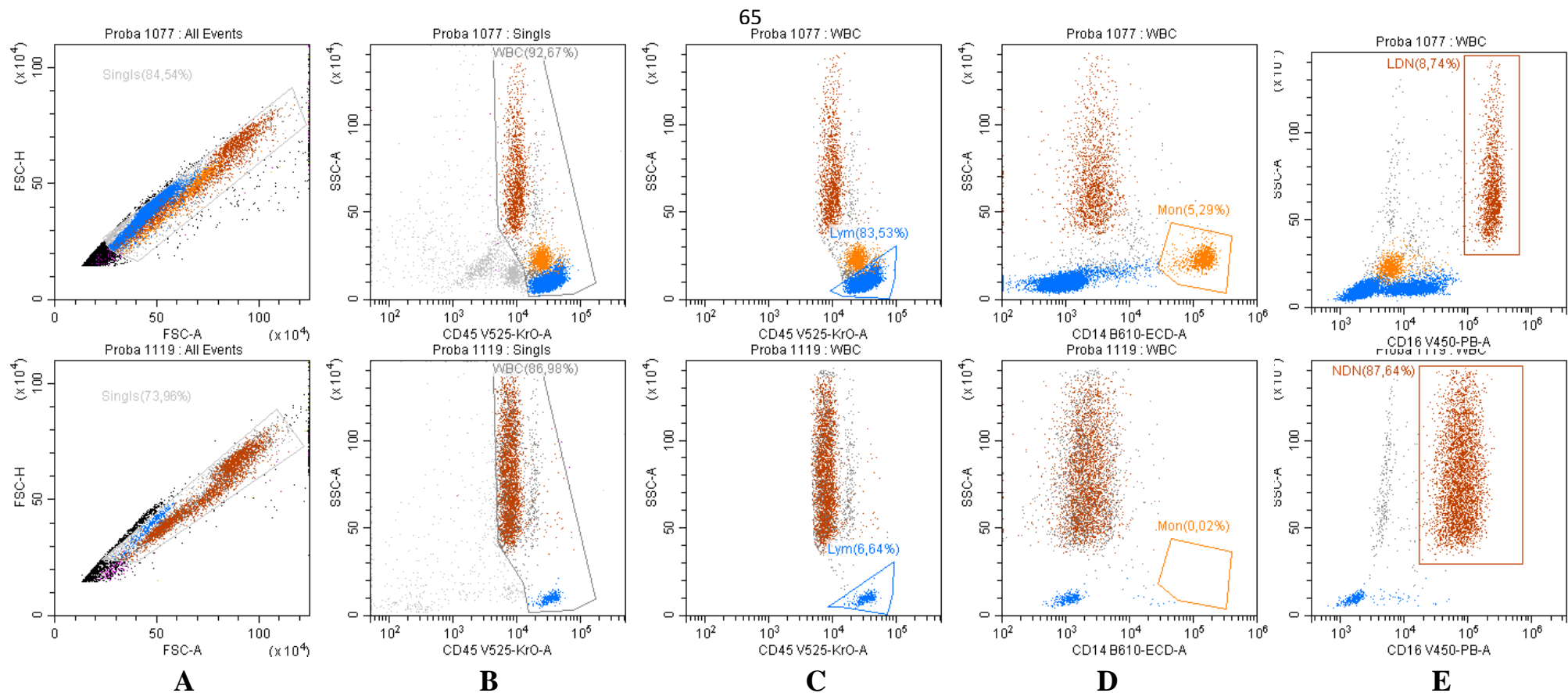
Важная физиологическая роль канала ENaC состоит в поддержании баланса ионов  $\text{Na}^+$ . Особое значение данного канала для участия в механизмах контроля АД становится очевидным, если учесть, что нарушение функции ENaC приводит к повышению АД, так как это, возможно, связано с чрезмерным накоплением ионов натрия внутри клетки. Таким образом, эпителиальные натриевые каналы оказывают существенное влияние на нормальное функционирование клеток, участвуя в регуляции физиологических функций, таких как изменение уровня АД. Однако сегодня недостаточно сведений о молекулярных механизмах влияния натриевых каналов на изменение внутриклеточного гомеостаза натрия и регуляцию АД [62, 92].

Для изучения функционирования натриевых ионных каналов, было изучено внутриклеточное содержание ионов натрия ( $[\text{Na}^+]_i$ ) внутри нейтрофилов низкой плотности (LDN) с использованием методики фиксации средней интенсивности флуоресценции MFI (mean fluorescent intensity), измеряемой в RFU (relative fluorescence units) [199].

Первым этапом исследования были идентифицированы различные популяции лейкоцитов после выделения на градиенте плотности 1077/1119. Стратегия гейтирования методом проточной цитометрии, разработанная нами

путем смешивания клеток, использовалась для оценки субпопуляций лейкоцитов, собранных из свежей крови пациентов и контрольной группы лиц (рисунок 15).





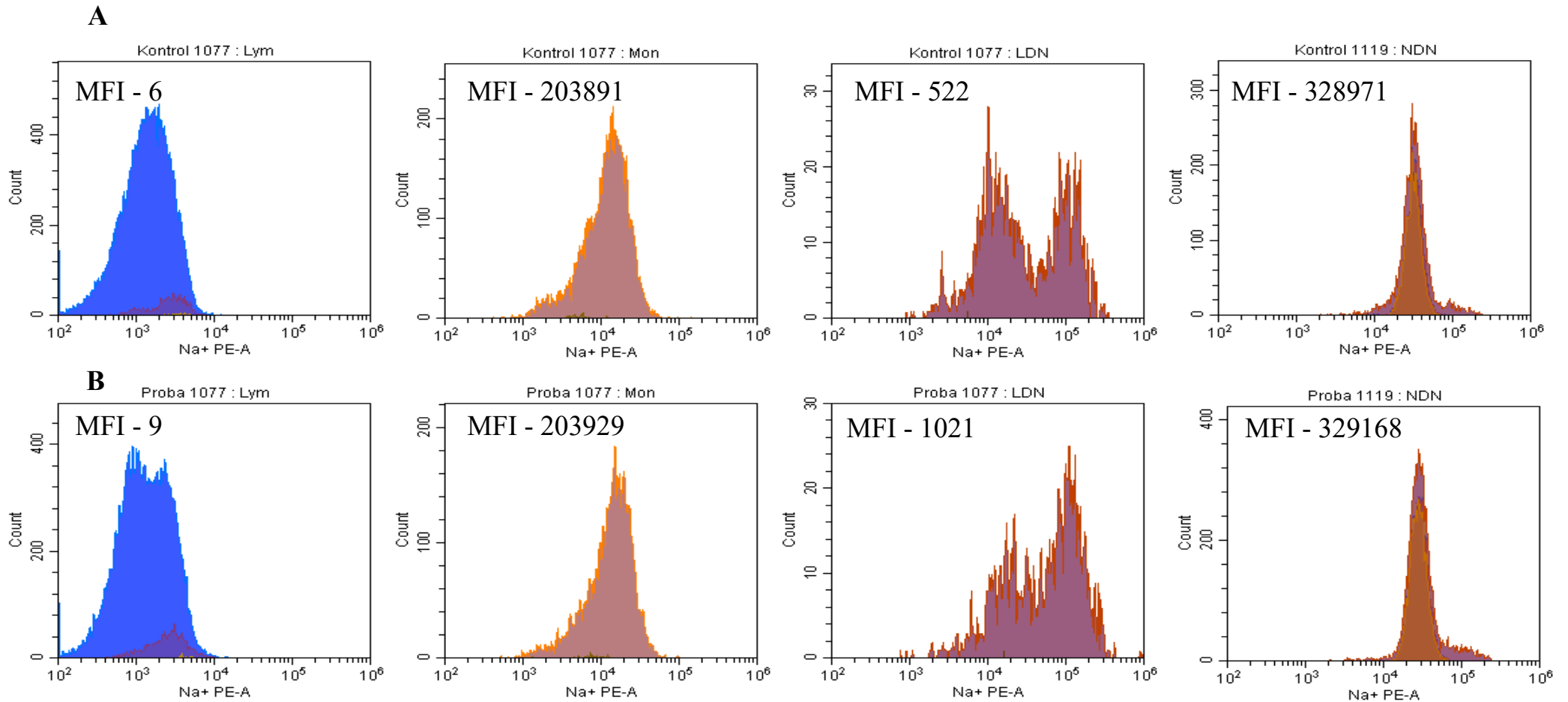
**Рисунок 15.** (A) Singls – черным цветом обозначены единичные слипшиеся клетки, которые были удалены из зоны анализа, (B) WBC – серым цветом обозначен гейт лейкоцитов, (C) Lym – синим цветом обозначен гейт лимфоцитов, (D) Mon – оранжевым цветом обозначен гейт моноцитов, (E) LDN – красным цветом обозначен гейт нейтрофилов низкой плотности (low-density neutrophils) и NDN – гейт нейтрофилов высокой/нормальной плотности (normal-density neutrophils)

Все частицы, присутствующие в образцах клеток, были сначала проанализированы на точечной диаграмме FSC-H/FSC-A. В каждом гейте было собрано не менее 10 000 событий. Субпопуляции лейкоцитов измерялись методом многопараметрической проточной цитометрии с панелью моноклональных антител с использованием проточного цитометра, и в дальнейшем характеристика популяции лейкоцитов проводилась путем выявления комбинации маркеров, экспрессируемых на их поверхности. В результате исследования было выделено: CD45+ для WBC (92,7%/1077; 87,0%/1119) и для Lym (83,5%/1077; 6,6%/1119); CD14+ для Mon (5,3%/1077; 0,02%/1119) и CD16+ для LDN (8,7%/1077) и NDN (87,64%/1119).

Полагая, что на разных временных отрезках интенсивность флуоресценции может меняться, для определения уровня MFI ионов натрия в LDN, выделенных у здоровых людей и у пациентов с АГ, было выбрано три временных этапа: 30, 60 и 120 мин от начала исследования. Таким образом, мы стремились исследовать, изменяется ли уровень притока ионов  $\text{Na}^+$  через натриевые каналы в зависимости от времени, и определить, есть ли различия в двух исследуемых группах.

Анализ проточной цитометрии показал, что различия между средними значениями уровня MFI  $[\text{Na}^+]_i$  в группах АГ и контроля были определены только в популяции LDN. Для оценки изменения содержания  $[\text{Na}^+]_i$  в популяции LDN мы сравнили уровень MFI ионов натрия в группах больных АГ и здоровых.

Далее приведен пример оценки уровня MFI красителя ION NaTRIUM Green™-2 AM на соответствующих популяциях лейкоцитов после выделения на градиенте плотности 1077/1119 через 120 мин от начала исследования в исследуемых группах (рисунок 16).



**Рисунок 16.** Пример оценки уровня MFI  $[Na^+]_i$  при добавлении красителя ION NaTRIUM Green™-2 AM на популяциях лейкоцитов после выделения на градиенте плотности 1077/1119 (Lym, Mon, LDN, NDN) при 37 °C через 120 мин от начала исследования. **A** – графики соответствуют уровню MFI  $[Na^+]_i$  в группе пациентов с артериальной гипертензией. **B** – графики соответствуют уровню MFI  $[Na^+]_i$  в группе контроля

Нами установлено, что в группе больных АГ уровень средней интенсивности флуоресценции, зафиксированный на 30 и 120-ой минутах от начала исследования, значительно выше, чем в группе контроля (**p=0,004**), что может говорить о различном внутриклеточном содержании ионов Na<sup>+</sup> соответственно (таблица 5). Различия средней интенсивности флуоресценции, зафиксированной на 60 минуте исследования, в группе контроля и у пациентов с АГ были статистически не значимыми (p=0,098).

Таблица 5

**Влияние SNV rs11064153 гена SCNN1A на внутриклеточное содержание ионов натрия у пациентов с артериальной гипертензией и здоровых лиц**

Исследуемый показатель	Исследуемая группа		Тестовая статистика Манна-Уитни
	Группа контроля n=106	Группа АГ n=135	
MFI-30 [Na <sup>+</sup> ]i, RFU	231,0 (201,0; 243,0)	197,0 (151,8; 242,2)	<b>U=810,5,</b> <b>p=0,004</b>
MFI-60 [Na <sup>+</sup> ]i, RFU	373,0 (357,5; 379,5)	358,0 (331,0; 381,7)	U=989,0, p=0,098
MFI-120 [Na <sup>+</sup> ]i, RFU	535,0 (473,0; 721,0)	701,5 (600,3; 876,5)	<b>U=643,5,</b> <b>p&lt;0,001</b>

**Примечание:** MFI [Na<sup>+</sup>]i – уровень средней интенсивности флуоресценции ионов Na<sup>+</sup> в нейтрофилах низкой плотности, зафиксированный: MFI-30 – через 30 минут, MFI-60 – через 60 минут, MFI-120 – через 120 минут от начала исследования; RFU – единицы измерения MFI; U – критерий Манна-Уитни; p – уровень статистической значимости.

Таким образом, учитывая уровень MFI [Na<sup>+</sup>]i, зафиксированный через 120 минут от начала исследования, у пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией отмечено увеличение внутриклеточного содержания ионов натрия в 1,3 раза по сопоставлению с группой контроля.

В работе была выдвинута гипотеза о возможном влиянии однонуклеотидного варианта rs11064153 гена SCNN1A на функционирование эпителиальных натриевых каналов и вариативность содержания ионов  $\text{Na}^+$  внутри клетки при сравнении двух групп: пациентов с АГ и группы контроля.

### **3.2 Анализ встречаемости SNV генов натриевых каналов в популяции Забайкальского края**

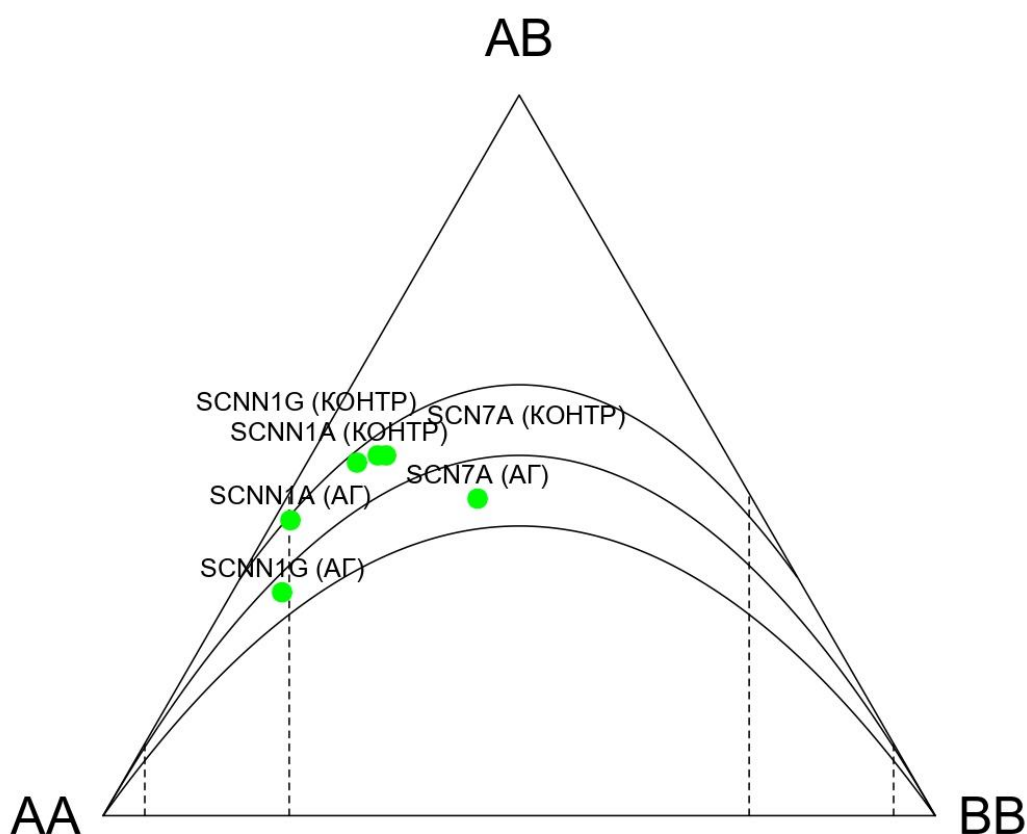
Нами была проведена сравнительная оценка встречаемости однонуклеотидных вариантов генов отдельных субъединиц натриевых каналов среди здоровых людей и больных артериальной гипертензией – жителей Забайкальского края.

По данным немногочисленных научных исследований анализ ассоциации однонуклеотидных вариантов генов натриевых каналов SCNN1A (rs11064153), SCNN1G (rs4401050), SCN7A (rs7565062) с АГ изучался в большей степени в азиатских (китайской и японской) этнических группах [42], поэтому мы полагаем, что было небезынтересно проанализировать данные о распространенности данных SNV среди европеоидов, проживающих на территории Забайкальского края.

Исследование ассоциаций аллелей и генотипов трех полиморфных вариантов генов, регулирующих работу натриевых каналов, проведено на выборке 241 лиц (135 пациентов с АГ и 106 здоровых лиц). В результате молекулярно-генетического исследования в обеих группах обнаружены гомо- и гетерозиготные состояния для исследуемых вариантов генов SCNN1A (rs11064153), SCNN1G (rs4401050), SCN7A: с.122  $G>T$  ( $G>A/G>C$ ) (p.Thr41Ile, rs7565062).

По результатам генотипирования из исследуемых SNV отклонений от равновесия Харди-Вайнберга в контрольной группе и в группе АГ выявлено не было, что можно наблюдать на рисунке 17, где представлена диаграмма де Финетти, основанная на равновесном треугольнике. Теоретическое распределение показано тремя параболическими кривыми: область верхней вершины параболы

указывает на частоту гетерозигот, а две нижние вершины используются для одной из двух частот гомозигот AA-доминантной, AB-рецессивной. У всех исследованных однонуклеотидных вариантов генов натриевых каналов, распределение частот генотипов находится в состоянии равновесия Харди-Вайнберга, так как точки на диаграмме (исследуемые SNV) располагаются в пределах этих кривых. Частоты всех исследованных генотипов SNV генов натриевых каналов в группе пациентов и в контроле соответствуют равновесию Харди-Вайнберга, поэтому их можно перенести на всю популяцию.



**Рисунок 17.** Примечание: графическое представление соответствия долей изучаемых генотипов для каждого однонуклеотидных вариантов генов SCNN1A (rs11064153), SCNN1G (rs4401050), SCN7A (rs7565062) в группе «АГ» - группа пациентов с артериальной гипертензией и «КОНТР» - в группе контроля. Частота

доминантных гомозигот  $AA$  соответствует генотипам  $TT$  (SCNN1A),  $CC$  (SCNN1G) и  $GG$  (SCN7A). Частота гетерозигот  $AB$  соответствует генотипам  $TC$  (SCNN1A),  $CT$  (SCNN1G) и  $GT$  (SCN7A). Частота рецессивных гомозигот  $BB$  соответствует генотипам  $CC$  (SCNN1A),  $TT$  (SCNN1G) и  $TT$  (SCN7A). SNV, окрашенные на графике в зелёный цвет, отображают распределение генотипов, которое точно соответствует равновесию Харди-Вайнберга [112].

### 3.2.1 Вариант гена SCNN1A (rs11064153) у пациентов с артериальной гипертензией и здоровых людей

В ходе исследования SNV гена SCNN1A: с.39+3690T>C, (rs11064153) распределение генотипов в группах не отличалось от ожидаемого (таблица 6, 7) в соответствии с законом Харди–Вайнберга (HWE).

Таблица 6

#### Соответствие частот генотипов SNV гена SCNN1A (rs11064153) группы контроля равновесию Харди-Вайнберга

Генотипы	Частота генотипов		HWE	p-значение
	Наблюдаемая	Ожидаемая		
Генотип $TT$	0,396	0,442	2,56	<b>0,11</b>
Генотип $TC$	0,538	0,445		
Генотип $CC$	0,066	0,112		

**Примечание:** уровень статистической значимости различий более 0,05 свидетельствует о подчинении равновесию Харди-Вайнберга (тест  $\chi^2$ -Пирсона).

Таблица 7

**Соответствие частот генотипов SNV гена SCNN1A (rs11064153) пациентов с АГ равновесию Харди-Вайнберга**

Генотипы	Частота генотипов		HWE	p-значение
	Наблюдаемая	Ожидаемая		
Генотип <i>TT</i>	0,570	0,599	2,33	<b>0,13</b>
Генотип <i>TC</i>	0,407	0,350		
Генотип <i>CC</i>	0,022	0,051		

**Примечание:** уровень статистической значимости различий более 0,05 свидетельствует о подчинении равновесию Харди-Вайнберга (тест  $\chi^2$ -Пирсона).

В процессе расчета отношения шансов с использованием общей и мультипликативной генетических моделей определена вероятность развития АГ (таблица 8).

Таблица 8

**Частота распределения аллелей и генотипов SNV гена SCNN1A (rs11064153) у пациентов с АГ и в группе контроля**

Аллели и генотипы	АГ (n=135)	Контроль (n=106)	$\chi^2$	p-значение	ОШ	
					Значение	95% ДИ
Аллель Т	0,774	0,665	7,09	<b>0,008</b>	<b>1,73</b>	<b>1,15–2,58</b>
Аллель С	0,226	0,335			0,58	0,39–0,87
<i>TT</i>	0,570	0,396	8,53	<b>0,004</b>	<b>2,02</b>	<b>1,21–3,39</b>
<i>TC</i>	0,407	0,538			0,59	0,35–0,99



Продолжение таблицы 8

Аллели и генотипы	АГ (n=135)	Контроль (n=106)	$\chi^2$	р-значение	ОШ	
					Значение	95% ДИ
СС	0,022	0,066	8,53	<b>0,004</b>	0,32	0,08–1,27

**Примечание:** тест  $\chi^2$ -Пирсона; р-значение — показатель статистической значимости различий между группами; АГ — группа пациентов с артериальной гипертензией; ОШ — отношение шансов; ДИ — доверительный интервал.

Установлено, что носительство аллели Т и генотипа *TT* SNV гена *SCNN1A* (rs11064153) определяет наибольшую вероятность развития АГ. Так, в группе пациентов с АГ в 1,2 раза чаще выявлялась аллель Т, по сравнению с группой относительно здоровых лиц ( $p = 0,008$ ). Также можно отметить, что носительство генотипа *TT* в группе пациентов с АГ встречалось чаще, чем в группе контроля ( $p = 0,004$ ), что связано с увеличением вероятности развития заболевания в 2,02 раза.

Обращает на себя внимание, что аллель С rs11064153 гена *SCNN1A* у пациентов с АГ наблюдалось в 1,5 раза реже, чем в группе контроля ( $p = 0,008$ ), а носительство генотипа *СС* встречалось в 3 раза реже относительно здоровых лиц ( $p = 0,004$ ), что позволяет сделать вывод, что носительство аллели С и генотипа *СС* rs11064153 ассоциировано с более низкой частотой встречаемости у пациентов с АГ.

### 3.2.2 Вариант гена *SCNN1G* (rs4401050) у пациентов с артериальной гипертензией и здоровых людей

Анализ полученных данных показал, что распределение аллелей и генотипов SNV гена *SCNN1G* с.1078-3669C>G(rs4401050) в исследуемых группах соответствовало закону Харди-Вайнберга (таблица 9, 10).

Таблица 9

**Соответствие частот генотипов SNV гена SCNN1G (rs4401050) группы  
контроля равновесию Харди-Вайнберга**

Генотипы	Частота генотипов		HWE	p-значение
	Наблюдаемая	Ожидаемая		
Генотип <i>CC</i>	0,396	0,436	1,60	<b>0,21</b>
Генотип <i>CT</i>	0,528	0,449		
Генотип <i>TT</i>	0,075	0,115		

**Примечание:** уровень статистической значимости различий более 0,05 свидетельствует о подчинении равновесию Харди-Вайнберга (тест  $\chi^2$ -Пирсона).

Таблица 10

**Соответствие частот генотипов SNV гена SCNN1G (rs4401050)  
пациентов с АГ равновесию Харди-Вайнберга**

Генотипы	Частота генотипов		HWE	p-значение
	Наблюдаемая	Ожидаемая		
Генотип <i>CC</i>	0,630	0,617	0,49	<b>0,48</b>
Генотип <i>CT</i>	0,311	0,337		
Генотип <i>TT</i>	0,059	0,046		

**Примечание:** уровень статистической значимости различий более 0,05 свидетельствует о подчинении равновесию Харди-Вайнберга (тест  $\chi^2$ -Пирсона).

Обнаружены статистически значимые различия частоты генотипов rs4401050 гена SCNN1G эпителиальных натриевых каналов (таблица 11).

**Частота распределения аллелей и генотипов SNV гена SCNN1G (rs4401050) у пациентов с АГ и в группе контроля**

Аллели и генотипы	АГ (n=135)	Контроль (n=106)	$\chi^2$	р-значение	ОШ	
					Значение	95% ДИ
Аллель С	0,785	0,660	9,39	0,002	<b>1,88</b>	<b>1,25–2,82</b>
Аллель Т	0,215	0,340			0,53	0,35–0,80
<i>СС</i>	0,630	0,396	13,26	0,001	<b>2,59</b>	<b>1,54–4,37</b>
<i>СТ</i>	0,311	0,528			0,33	0,24–0,68
<i>ТТ</i>	0,059	0,075			1,61	0,28–2,13

**Примечание:** тест  $\chi^2$ -Пирсона; р-значение — показатель статистической значимости различий между группами; АГ — группа пациентов с артериальной гипертензией; ОШ — отношение шансов; ДИ — доверительный интервал.

Можно отметить, что среди пациентов в 1,2 раза чаще выявлялась аллель С ( $p = 0,002$ ) и генотип *СС* ( $p = 0,001$ ) варианта гена SCNN1G (rs4401050), по сравнению с группой здоровых лиц. Обращает на себя внимание, что при расчете отношения шансов нижняя граница доверительного интервала превышает значение 1,5, что говорит об умеренной связи носительства генотипа *СС* с вероятностью развития АГ.

Напротив, аллель Т гена rs4401050 у пациентов с АГ встречалась в 1,6 раза реже, чем в группе контроля ( $p = 0,002$ ). Носительство генотипа *ТТ* ассоциировано с более низкой частотой встречаемости у пациентов с АГ (ОШ = 1,61 [95 % ДИ 0,28–2,13],  $p = 0,001$ ).

### 3.2.3 Вариант гена SCN7A (rs7565062) у пациентов с артериальной гипертензией и здоровых людей

При сравнении частот генотипов SNV гена SCN7A: с.122G>T/(G>A/G>C) (р.Thr41Ile, rs7565062) полученных и ожидаемых частот статистически значимых различий не выявлено. Следовательно, результаты подчиняются закону Харди-Вайнберга. Соответствие закону Харди-Вайнберга распределения частот генотипов исследуемых групп представлено в таблицах 12, 13.

Таблица 12

#### Соответствие частот генотипов SNV гена SCN7A (rs7565062) группы контроля равновесию Харди-Вайнберга

Генотипы	Частота генотипов		HWE	р-значение
	Наблюдаемая	Ожидаемая		
Генотип <i>GG</i>	0,396	0,449	3,55	<b>0,06</b>
Генотип <i>GT</i>	0,547	0,442		
Генотип <i>TT</i>	0,057	0,109		

**Примечание:** уровень статистической значимости различий более 0,05 свидетельствует о подчинении равновесию Харди-Вайнберга (тест  $\chi^2$ -Пирсона).

Таблица 13

#### Соответствие частот генотипов SNV гена SCN7A (rs7565062) пациентов с АГ равновесию Харди-Вайнберга

Генотипы	Частота генотипов		HWE	р-значение
	Наблюдаемая	Ожидаемая		
Генотип <i>GG</i>	0,333	0,305	0,97	<b>0,32</b>
Генотип <i>GT</i>	0,437	0,495		

Продолжение таблицы 13

Генотипы	Частота генотипов		HWE	р-значение
	Наблюдаемая	Ожидаемая		
Генотип <i>TT</i>	0,230	0,201	0,97	<b>0,32</b>

**Примечание:** уровень статистической значимости различий более 0,05 свидетельствует о подчинении равновесию Харди-Вайнберга (тест  $\chi^2$ -Пирсона).

Сравнительная характеристика частоты распределения генотипов и аллельных вариантов гена *SCN7A* (rs7565062) у пациентов с ЭГ и здоровых представлена в таблице 14.

Таблица 14

**Частота распределения аллелей и генотипов SNV гена *SCN7A* (rs7565062) у пациентов с АГ и в группе контроля**

Аллели и генотипы	АГ (n=135)	Контроль (n=106)	$\chi^2$	р-значение	ОШ	
					Значение	95% ДИ
Аллель G	0,552	0,670	6,91	0,009	0,61	0,42–0,88
Аллель T	0,448	0,330			<b>1,65</b>	<b>1,13–2,39</b>
<i>GG</i>	0,333	0,396	13,71	0,001	0,76	0,45–1,29
<i>GT</i>	0,437	0,547			0,64	0,39–1,07
<i>TT</i>	0,230	0,057			<b>4,97</b>	<b>1,99–12,42</b>

**Примечание:** тест  $\chi^2$ -Пирсона; р-значение — показатель статистической значимости различий между группами; АГ — группа пациентов с артериальной гипертензией; ОШ — отношение шансов; ДИ — доверительный интервал.

При исследовании варианта *SCN7A* (rs7565062) у пациентов с АГ была выявлена более высокая частота встречаемости аллели T ( $p = 0,009$ ) и гомозиготного генотипа *TT* ( $p = 0,001$ ). Наряду с этим, частота аллели G и генотипа

*GG* преобладала в группе контроля ( $p = 0,009$ ), что позволяет сделать вывод, что носительство данной аллели ассоциировано с уменьшением риска развития АГ. Вследствие этого шанс развития АГ у носителей генотипа *TT* в 6,2 раза выше, чем у носителей генотипа *GG* варианта rs7565062 гена потенциал-зависимых натриевых каналов.

Таким образом, обнаружены различия в распределении частот аллелей и генотипов SNV генов натриевых каналов (rs11064153) *SCNN1A*, (rs4401050) *SCNN1G* и (rs7565062) *SCN7A* у больных АГ и у здоровых лиц. Исходя из полученных данных, наличие аллели Т и генотипа *TT* однонуклеотидного варианта rs11064153 гена *SCNN1A*; аллели С и генотипа *CC* варианта rs4401050 гена *SCNN1G* эпителиальных натриевых каналов; а также присутствие аллели Т и генотипа *TT* SNV гена *SCN7A* (rs7565062) потенциал-управляемых натриевых каналов повышает вероятность развития АГ.

### **3.3 Ассоциация генотипов SNV rs11064153 (*SCNN1A*), rs4401050 (*SCNN1G*) и rs7565062 (*SCN7A*) и исходных характеристик группы контроля и пациентов с гипертензией**

При анализе аллельных комбинаций SNV гена *SCNN1A* (rs11064153) и исходных характеристик в исследуемых группах различия по таким параметрам как возраст, ИМТ, САД, ДАД, пульсовое давление и среднее АД, в зависимости от изучаемых генотипов, были статистически незначимыми (таблица 15).

**Ассоциация генотипов rs11064153 гена SCNN1A и исходных характеристик группы контроля и пациентов с гипертензией**

Параметр исследования	Генотипы SNV гена SCNN1A (rs11064153)			Тестовая статистика Краскела-Уоллиса
	TT n=119	TC n=112	CC n=10	
Возраст, лет	43,0 (34,0; 49,0)	44,0 (39,0; 49,0)	44,5 (40,8; 48,5)	H=1,1 p=0,574
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	22,0 (20,6; 24,0)	22,1 (20,8; 24,2)	21,7 (20,3; 24,5)	H=0,3 p=0,871
САД, мм рт. ст.	140,0 (120,0; 155,0)	130,0 (120,0; 153,8)	121,5 (120,0; 145,0)	H=2,3 p=0,315
ДАД, мм рт. ст.	82,0 (70,0; 95,0)	80,0 (70,0; 90,0)	77,5 (70,0; 90,0)	H=2,2 p=0,339
Пульсовое давление, мм рт. ст.	107,0 (89,0; 113,0)	98,5 (87,0; 112,0)	90,5 (87,0; 108,5)	H=1,9 p=0,387
Среднее АД, мм рт. ст.	50,0 (46,0; 64,0)	50,0 (45,0; 60,0)	50,0 (44,3; 53,8)	H=2,0 p=0,377

**Примечание:** H – критерий Краскела-Уоллиса; p – уровень статистической значимости.

В результате проведенного анализа частот генотипов в группе пациентов с АГ (таблица 16), было установлено, что различий по исследуемым параметрам (возраст, дебют и стаж заболевания, САД, ДАД и др.) не выявлено (p>0,05).

**Ассоциация генотипов rs11064153 в SCNN1A гене и исходных характеристик пациентов с АГ**

Параметр исследования	Генотипы SNV гена SCNN1A (rs11064153)			Тестовая статистика Краскела-Уоллиса
	ТТ n=77	ТС n=55	СС n=3	
Возраст, лет	45,0 (36,5; 49,5)	44,0 (40,0; 52,0)	44,0 (41,0; 55,0)	H=1,1 p=0,574
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	22,7 (20,9; 24,5)	22,5 (20,9; 24,4)	24,3 (20,3; 26,5)	H=0,6 p=0,733
Дебют заболевания, лет	40,0 (30,0; 40,0)	37,0 (30,0; 40,0)	21,0 (19,0; 40,0)	H=2,6 p=0,273
Стаж АГ, лет	9,0 (5,0; 16,0)	12,0 (5,0; 21,0)	36,0 (9,0; 36,0)	H=4,5 p=0,108
САД, мм рт. ст.	150,0 (140,0; 160,0)	155,0 (145,0; 160,0)	160,0 (140,0; 160,0)	H=1,9 p=0,393
ДАД, мм рт. ст.	90,0 (85,5; 90,0)	90,0 (90,0; 100,0)	90,0 (90,0; 95,0)	H=0,2 p=0,919
Пульсовое давление, мм рт. ст.	60,0 (50,0; 70,0)	60,0 (50,0; 70,0)	65,0 (50,0; 70,0)	H=0,6 p=0,729
Среднее АД, мм рт. ст.	110,0 (107,0; 117,0)	112,0 (107,0; 120,0)	113,0 (107,0; 117,0)	H=2,0 p=0,377

**Примечание:** H – критерий Краскела-Уоллиса; p – уровень статистической значимости.

Таким образом, при детальном анализе исходных данных, можно сделать заключение, что такие параметры, как возраст, стаж заболевания, дебют заболевания, ИМТ, САД, ДАД, пульсовое давление и среднее АД не связаны с



носителем генотипов SNV rs11064153 в SCNN1A гена эпителиальных натриевых каналов.

При изучении аллельных комбинаций SNV гена в SCN7A (rs7565062) и исходных характеристик исследуемых групп, обращает на себя внимание то, что уровень САД у носителей генотипа *TT* гена SCN7A превышал таковой у носителей генотипа *GG* на 10,0 [5,0; 40,0] мм рт.ст. ( $U=1137,5$ ,  $p=0,009$ ), а носителей *GT* на 15,0 [10,0; 40,0] мм рт.ст. ( $U=1470,5$ ,  $p=0,003$ ). Между тем, уровень САД статистически значимо выше у носителей генотипа *GG* и *GT* гена SCN7A ( $U=4886,5$ ,  $p=0,624$ ). Уровень пульсового давления у носителей генотипа *TT* гена SCN7A превышал таковой носителей генотипа *GG* на 15,0 [10,0; 25,0] мм рт.ст. ( $U=1095,0$ ,  $p=0,004$ ), а носителей *GT* на 15,0 [10,0; 25,0] мм рт.ст. ( $U=1411,0$ ,  $p=0,001$ ). При этом пульсовое давление статистически значимо не отличается ( $U=5073,5$ ,  $p=0,97$ ) у носителей генотипа *GG* и *GT* гена SCN7A (таблица 17).

Таблица 17

**Ассоциация генотипов rs7565062 гена SCN7A и исходных характеристик группы контроля и пациентов с гипертензией**

Параметр исследования	Генотипы SNV гена SCN7A (rs7565062)			Тестовая статистика Краскела-Уоллиса
	<i>GG</i> n=87	<i>GT</i> n=117	<i>TT</i> n=37	
Возраст, лет	45,0 (37,0; 50,0)	43,0 (37,0; 48,0)	45,0 (35,5; 50,5)	H=1,1 p=0,574
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	22,0 (20,8; 23,6)	22,0 (20,6; 24,1)	23,1 (20,7; 25,0)	H=3,475 p=0,176
САД, мм рт. ст.	140,0 (120,0; 150,0)	130,0 (120,0; 150,0)	145,5 (140,0; 160,0)	<b>H=9,287</b> <b>p=0,01</b>
ДАД, мм рт. ст.	80,0 (70,0; 90,0)	80,0 (70,0; 95,0)	90,0 (80,0; 90,0)	H=3,727 p=0,155

## Продолжение таблицы 17

Параметр исследования	Генотипы SNV гена SCN7A (rs7565062)			Тестовая статистика Краскела-Уоллиса
	<i>GG</i> n=87	<i>GT</i> n=117	<i>TT</i> n=37	
Пульсовое давление, мм рт. ст.	50,0 (45,0; 60,0)	50,0 (45,0; 60,0)	60,0 (50,0; 70,0)	<b>H=10,845</b> <b>p=0,004</b>
Среднее АД, мм рт. ст.	100,0 (87,0; 112,0)	97,0 (87,0; 113,0)	107,0 (101,0; 113,0)	H=5,544 p=0,063

**Примечание:** H – критерий Краскела-Уоллиса; p – уровень статистической значимости.

Обнаружено, что стаж АГ у носителей генотипа *GG* варианта rs7565062 гена SCN7A превышает таковой у носителей генотипа *GT* на 11,0 [8,0; 15,5] лет ( $U=509,5$ ,  $p<0,001$ ), а стаж у носителей генотипа *TT* — на 11,0 [7,0; 12,5] лет ( $U=309,5$ ,  $p<0,001$ ). Между тем, стаж АГ у носителей генотипов *GT* и *TT* примерно одинаков ( $U=816,0$ ,  $p<0,4$ ).

Выявлено, что в группе пациентов с АГ дебют заболевания у носителей генотипа *GG* наблюдался раньше, чем у носителей *GT* на 10,0 [6,5; 16,0] лет ( $U=448,0$ ,  $p<0,001$ ) и носителей *TT* на 10,0 [6,0; 10,0] лет ( $U=323,0$ ,  $p<0,001$ ). Однако дебют заболевания у носителей *GT* и *TT* был сопоставим ( $U=885,5$ ,  $p=0,793$ ) (таблица 18).

**Ассоциация исходных характеристик пациентов с АГ и генотипов SNV гена SCN7A (rs7565062)**

Параметр исследования	Генотипы SNV гена SCN7A (rs7565062)			Тестовая статистика Краскела-Уоллиса
	GG n=45	GT n=59	TT n=31	
Возраст, лет	48,0 (40,0; 52,0)	44,0 (37,0; 49,0)	40,0 (30,0; 42,0)	H=2,3 p=0,311
Рост, м	1,7 (1,6; 1,8)	1,7 (1,6; 1,8)	1,7 (1,7; 1,8)	H=2,2 p=0,332
Вес, кг	76,0 (70,5; 84,0)	78,0 (72,0; 85,0)	80,0 (72,0; 87,0)	H=1,9 p=0,382
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	22,4 (20,9; 24,5)	22,8 (20,9; 24,2)	23,6 (20,8; 25,0)	H=2,0 p=0,363
Дебют заболевания, лет	30,0 (20,0; 33,5)	40,0 (36,0; 40,0)	40,0 (30,0; 42,0)	<b>H=36,3</b> <b>p&lt;0,001</b>
Стаж АГ, лет	19,0 (12,0; 27,5)	8,0 (4,0; 12,0)	8,0 (5,0; 15,0)	<b>H=32,3</b> <b>p&lt;0,001</b>
САД, мм рт. ст.	150,0 (140,0; 160,0)	150,0 (141,0; 160,0)	150,0 (140,0; 160,0)	H=0,2 p=0,916
ДАД, мм рт. ст.	90,0 (90,0; 95,0)	95,0 (90,0; 100,0)	90,0 (80,0; 95,0)	H=5,6 p=0,061
Пульсовое давление, мм рт. ст.	60,0 (50,0; 70,0)	60,0 (50,0; 70,0)	60,0 (50,0; 70,0)	H=1,7 p=0,417
Среднее АД, мм рт. ст.	110,0 (107,0; 117,5)	113,0 (107,0; 120,0)	108,0 (107,0; 113,0)	H=3,5 p=0,171

**Примечание:** H – критерий Краскела-Уоллиса; p – уровень статистической значимости.

Анализируя распределение генотипов rs7565062 гена SCN7A в группе контроля, достоверных различий по исследуемым параметрам не выявлено (таблица 19).

Таблица 19

**Ассоциация генотипов SNV гена SCN7A (rs7565062) исходных характеристик в группе контроля**

Параметр исследования	Генотипы SNV гена SCN7A (rs7565062)			Тестовая статистика а Краскела-Уоллиса
	<i>GG</i> n=87	<i>GT</i> n=117	<i>TT</i> n=37	
Возраст, лет	40,0 (31,0; 48,0)	44,0 (35,5; 47,0)	45,0 (40,0; 47,0)	H=2,216 p=0,33
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	22,0 (20,8; 23,6)	22,0 (20,6; 24,1)	23,1 (20,7; 25,0)	H=3,475 p=0,176
САД, мм рт. ст.	120,0 (110,0; 120,0)	120,0 (115,0; 120,0)	120,0 (120,0; 123,0)	H=3,523 p=0,172
ДАД, мм рт. ст.	70,0 (66,5; 74,3)	70,0 (70,0; 77,5)	75,0 (70,0; 80,0)	H=4,028 p=0,133
Пульсовое давление, мм рт. ст.	45,0 (40,0; 50,0)	50,0 (40,0; 50,0)	48,0 (42,0; 50,0)	H=1,162 p=0,559
Среднее АД, мм рт. ст.	87,0 (82,8; 90,5)	87,0 (85,0; 91,5)	90,0 (87,0; 91,0)	H=4,39 p=0,111

**Примечание:** H – критерий Краскела-Уоллиса; p – уровень статистической значимости.

При проведении анализа исходных характеристик в исследуемых группах и оценке их связи с аллельными комбинациями, были найдены отличия групп по уровням САД, ДАД, среднего АД и пульсового АД (таблица 20). Уровень САД у обладателей генотипа *CC* гена SCNN1G превышал таковой у носителей генотипа *CT* на 15,0 [5,0; 10,0] мм рт.ст. (U=4,646, p=0,001), статистически значимых

различий у носителей *CC* и *TT* ( $U=891,5$ ,  $p=0,423$ ), а также *CT* и *TT* ( $U=681,5$ ,  $p=0,396$ ) не выявлено.

Обнаружено, что уровень ДАД у носителей генотипа *CC* превышал таковой у носителей генотипа *CT* на 10,0 [5,0; 10,0] мм рт.ст. ( $U=4713,0$   $p=0,02$ ), статистически значимых различий у носителей *CC* и *TT* ( $U=861,0$ ,  $p=0,314$ ), а также *CT* и *TT* ( $U=679,5$ ,  $p=0,385$ ) выявлено не было.

Выявлено, что у носителей генотипа *CC* уровень среднего АД был выше по сравнению с носителями генотипа *CT* на 10,0 [10,0; 5,0] мм рт.ст. ( $U=4636,5$   $p=0,001$ ), статистически значимых различий у носителей *CC* и *TT* ( $U=890,0$ ,  $p=0,419$ ), а также *CT* и *TT* ( $U=690,5$ ,  $p=0,443$ ) также не было обнаружено.

Уровень пульсового давления у носителей генотипа *CC* превышал таковой у носителей генотипа *CT* на 14,0 [4,0; 6,0] мм рт.ст. ( $U=5035,5$   $p=0,013$ ), однако не было обнаружено статистически значимых отличий у носителей *CC* и *TT* ( $U=974,0$ ,  $p=0,786$ ), а также *CT* и *TT* ( $U=662,0$ ,  $p=0,311$ ).

Таблица 20

**Ассоциация генотипов rs4401050 гена SCNN1G и исходных характеристик группы контроля и пациентов с гипертензией**

Параметр исследования	Генотипы SNV гена SCNN1G (rs4401050)			Тестовая статистика а Краскела-Уоллиса
	<i>CC</i> n=127	<i>CT</i> n=98	<i>TT</i> n=16	
Возраст, лет	45,0 (37,0; 50,0)	42,0 (34,8; 47,3)	44,5 (43,3; 49,0)	H=5,7 p=0,059
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	22,3 (20,9; 24,1)	21,9 (20,4; 24,2)	21,7 (20,7; 26,2)	H=1,4 p=0,49
САД, мм рт. ст.	140,0 (120,0; 160,0)	124,5 (120,0; 150,0)	133,0 (120,0; 160,0)	<b>H=10,9</b> <b>p=0,005</b>
ДАД, мм рт. ст.	90,0 (75,0; 95,0)	80,0 (70,0; 90,0)	87,0 (70,5; 90,0)	<b>H=10,3</b> <b>p=0,006</b>

## Продолжение таблицы 20

Параметр исследования	Генотипы SNV гена SCNN1G (rs4401050)			Тестовая статистика Краскела-Уоллиса
	CC n=127	CT n=98	TT n=16	
Пульсовое давление, мм рт. ст.	107,0 (91,0; 113,0)	93,0 (87,0; 107,8)	102,5 (87,0; 113,0)	<b>H=10,7</b> <b>p=0,005</b>
Среднее АД, мм рт. ст.	55,0 (50,0; 65,0)	50,0 (45,0; 60,0)	51,0 (46,3; 68,8)	<b>H=6,3</b> <b>p=0,043</b>

**Примечание:** H – критерий Краскела-Уоллиса; p – уровень статистической значимости.

Однако при сравнении генотипов SNV гена SCNN1G (rs4401050) в группе пациентов с АГ и в группе контроля, различий по исследуемым параметрам не выявлено (таблица 21, 22).

Таблица 21

**Ассоциация исходных характеристик пациентов с АГ и генотипов SNV гена SCNN1G (rs4401050)**

Параметр исследования	Генотипы SNV гена SCNN1G (rs4401050)			Тестовая статистика Краскела-Уоллиса
	CC n=85	CT n=42	TT n=8	
Возраст, лет	47,0 (40,0; 51,0)	41,5 (36,5; 47,5)	44,0 (41,8; 53,5)	H=5,2 0,074
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	22,7 (20,9; 24,2)	22,5 (20,7; 24,6)	23,1 (19,2; 26,0)	H=0,3 p=0,871
Дебют заболевания, лет	40,0 (30,0; 40,0)	37,5 (30,0; 40,0)	37,5 (26,3; 40,0)	H=0,4 p=0,805

Продолжение таблицы 21

Параметр исследования	Генотипы SNV гена SCNN1G (rs4401050)			Тестовая статистика Краскела-Уоллиса
	CC n=85	CT n=42	TT n=8	
Стаж АГ, лет	11,0 (6,0; 19,0)	9,0 (4,8; 17,0)	8,5 (5,3; 25,3)	H=0,9 p=0,612
САД, мм рт. ст.	150,0 (140,0; 160,0)	150,0 (140,0; 160,0)	160,0 (143,8; 160,0)	H=0,6 p=0,737
ДАД, мм рт. ст.	90,0 (90,0; 95,0)	90,0 (80,0; 100,0)	90,0 (90,0; 93,8)	H=0,5 p=0,77
Пульсовое давление, мм рт. ст.	60,0 (50,0; 70,0)	60,0 (50,0; 70,0)	67,5 (52,5; 70,0)	H=0,5 p=0,768
Среднее АД, мм рт. ст.	110,0 (107,0; 119,5)	110,0 (107,0; 117,8)	113,0 (108,5; 114,5)	H=0,9 p=0,614

**Примечание:** H – критерий Краскела-Уоллиса; p – уровень статистической значимости.

Таблица 22

**Ассоциация исходных характеристик здоровых и генотипов SNV гена SCNN1G (rs4401050)**

Параметр исследования	Генотипы SNV гена SCNN1G (rs4401050)			Тестовая статистика Краскела-Уоллиса
	CC n=42	CT n=56	TT n=8	
Возраст, лет	42,0 (32,0; 48,0)	42,5 (34,0; 47,8)	46,0 (43,3; 48,5)	H=1,2 p=0,555
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	21,8 (20,5; 23,0)	21,4 (20,4; 23,3)	21,1 (20,7; 26,2)	H=0,6 p=0,746

Продолжение таблицы 22

Параметр исследования	Генотипы SNV гена SCNN1G (rs4401050)			Тестовая статистика Краскела-Уоллиса
	CC n=42	CT n=56	TT n=8	
САД мм рт. ст.	120,0 (110,0; 120,3)	120,0 (111,3; 120,0)	120,0 (117,0; 123,8)	H=0,6 p=0,737
ДАД, мм рт. ст.	90,0 (90,0; 95,0)	90,0 (80,0; 100,0)	90,0 (90,0; 93,8)	H=0,3 p=0,881
Пульсовое давление, мм рт. ст.	45,0 (40,0; 50,0)	48,0 (40,0; 50,0)	47,5 (40,5; 51,5)	H=0,4 p=0,829
Среднее АД, мм рт. ст.	87,0 (83,0; 91,3)	87,0 (85,0; 90,8)	87,0 (84,0; 92,3)	H=0,6 p=0,724

**Примечание:** H – критерий Краскела-Уоллиса; p – уровень статистической значимости.

Таким образом, при анализе ассоциаций генотипов SNV rs11064153 (SCNN1A), rs4401050 (SCNN1G) и rs7565062 (SCN7A) и исходных характеристик группы контроля и пациентов с АГ можно сделать вывод о том, что больные эссенциальной артериальной гипертензией представляют собой генетически гетерогенную группу с точки зрения связи конкретных генетических вариантов генов натриевых каналов с различными фенотипами артериального давления. Использование генетических подходов представляется перспективным для раннего скрининга больных АГ, относящихся к группе повышенного риска, с целью своевременного обеспечения эффективной органопroteкции.



### **3.4 Ассоциации генотипов однонуклеотидных вариантов генов-кандидатов (rs11064153) SCNN1A, (rs4401050) SCNN1G и (rs7565062) SCN7A с эссенциальной артериальной гипертензией в рамках возрастных групп**

Возраст является одним из важных факторов, связанных с риском развития ЭГ. Распространенность ЭГ увеличивается с возрастом [7].

В данной работе все исследуемые лица были разделены на две группы, согласно классификации возрастов, принятой Всемирной организацией здравоохранения [252]:

- лица молодого возраста – 18-44 лет;
- лица среднего возраста – 45-59 лет.

Отметим, что в возрастных группах 60-74 лет (лица пожилого возраста) и 70-90 лет, а также 90 лет и старше (долгожители) оценить распространенность не представляется возможным, потому что эта группа составила всего 1,90% (2/241) от всех лиц, входящих в данное исследование.

В настоящем исследовании было обнаружено, что носительство аллели Т и генотипа *ТТ* однонуклеотидного варианта rs11064153 гена SCNN1A, аллели С и генотипа *СС* варианта rs4401050 гена SCNN1G эпителиальных натриевых каналов, а также присутствие аллели Т и генотипа *ТТ* SNV гена SCN7A (rs7565062) потенциал-управляемых натриевых каналов увеличивает вероятность развития АГ. В зависимости от возраста лиц, входящих в данное исследование, нами была проанализирована связь между вероятностью развития АГ и носительством генотипов и аллелей однонуклеотидных вариантов генов натриевых каналов, предрасполагающих к повышению АД (таблицы 23, 24).

Таблица 23

Ассоциации генотипов генов-кандидатов SCNN1A, SCNN1G и SCN7A с эссенциальной артериальной гипертензией в рамках возрастной группы от 18-44 лет (n=129)

генотип	Группа контроля	Группа АГ	ОШ	95% ДИ	Р-значение
<b>SNV rs11064153 гена SCNN1A</b>					
<i>TT</i>	45,9% (28/61)	55,9% (38/68)	1,49	0,75–2,9	p=0,26
<b>SNV rs4401050 гена SCNN1G</b>					
<i>CC</i>	6,6% (4/61)	20,5% (14/68)	<b>3,69</b>	<b>1,14–11,93</b>	<b>p=0,02</b>
<b>SNV rs47565062 гена SCN7A</b>					
<i>TT</i>	42,6% (26/61)	52,9% (36/68)	1,51	0,76–3,04	p=0,24

**Примечание:** р-значение — показатель статистической значимости; АГ — группа пациентов с артериальной гипертензией; ОШ — отношение шансов; ДИ — доверительный интервал.

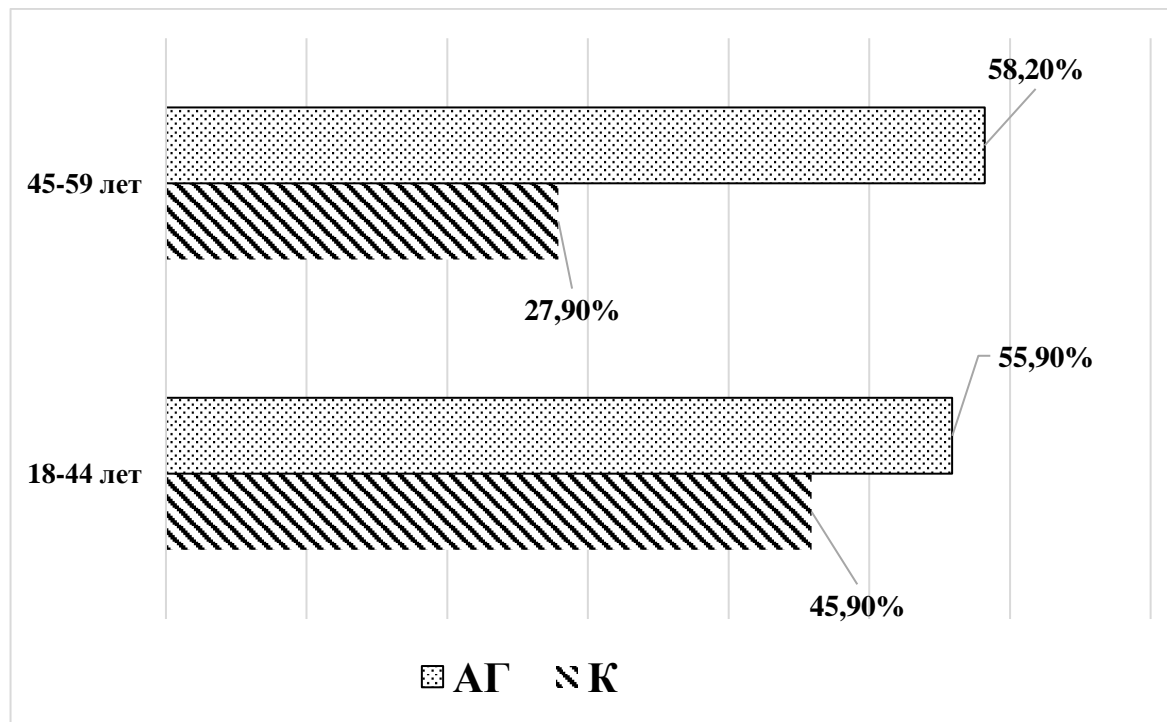
Таблица 24

Ассоциации генотипов генов-кандидатов SCNN1A, SCNN1G и SCN7A с эссенциальной артериальной гипертензией в рамках возрастной группы от 45-59 лет (n=110)

генотип	Группа контроля	Группа АГ	ОШ	95% ДИ	Р-значение
<b>SNV rs11064153 гена SCNN1A</b>					
<i>TT</i>	27,9% (12/43)	58,2% (39/67)	<b>3,60</b>	<b>1,58–8,21</b>	<b>p=0,02</b>
<b>SNV rs4401050 гена SCNN1G</b>					
<i>CC</i>	4,7% (2/43)	25,4% (17/67)	<b>6,97</b>	<b>1,52–31,94</b>	<b>p=0,005</b>
<b>SNV rs47565062 гена SCN7A</b>					
<i>TT</i>	32,6% (14/43)	73,1% (49/67)	<b>5,6</b>	<b>2,44–13,01</b>	<b>p&lt;0,001</b>

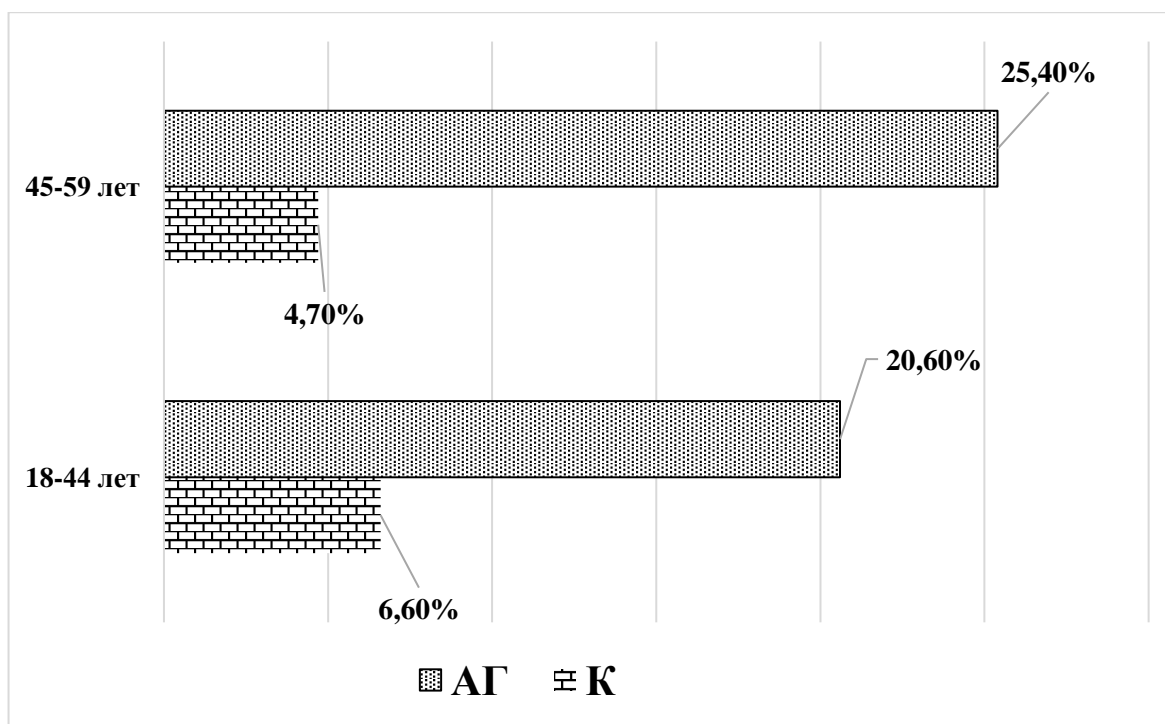
**Примечание:** р-значение — показатель статистической значимости; АГ — группа пациентов с артериальной гипертензией; ОШ — отношение шансов; ДИ — доверительный интервал.

В возрастной группе от 18-44 лет (рисунок 18) можно отметить, что носительство генотипа *TT* однонуклеотидного варианта гена *SCNN1A* (rs11064153) встречается чаще ( $\chi^2=1,28$ ,  $df=1$ ,  $p=0,6$ ); в отличие от возрастной группы 45-59 лет ( $\chi^2=9,67$ ,  $df=1$ ,  $p=0,002$ ).



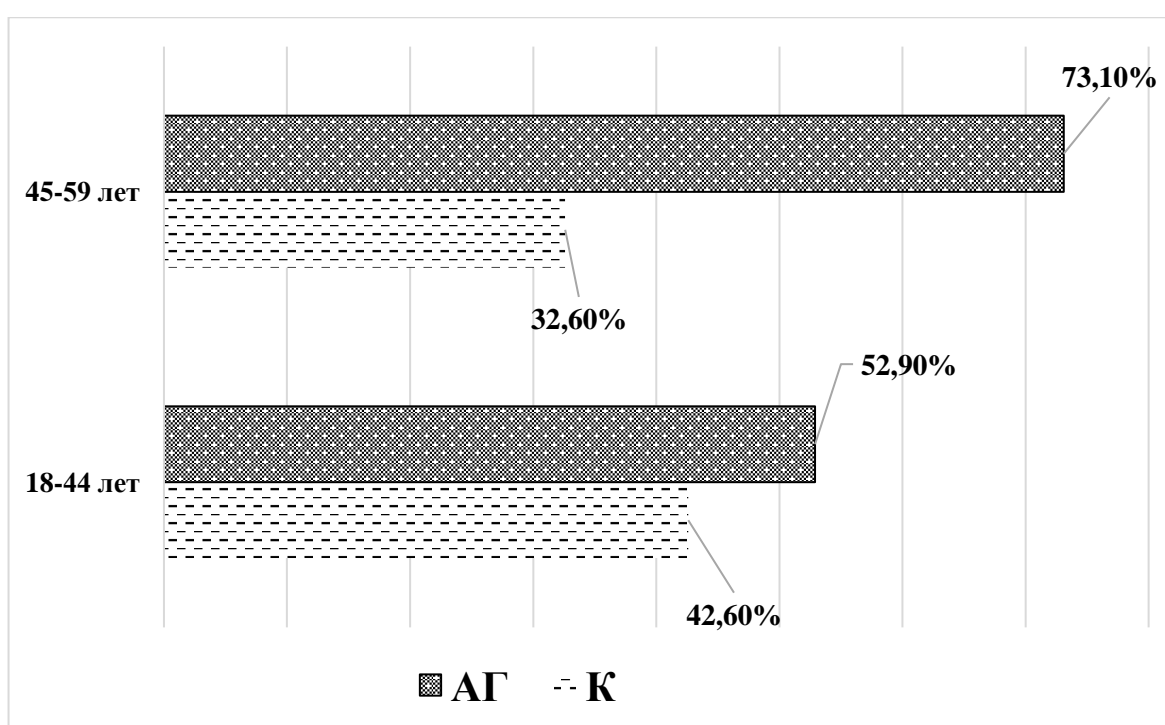
**Рисунок 18.** Носительство генотипа *TT* однонуклеотидного варианта гена *SCNN1A* (rs11064153). Примечание: «AG» — группа пациентов с артериальной гипертензией, «K» — группа контроля

На рисунке данном рисунке (рисунок 19) показано, что носительство генотипа *TT* однонуклеотидного варианта гена *SCN7A* (rs7565062) встречается наиболее часто в возрастных группах: 18-44 лет ( $\chi^2=4,17$ ,  $df=1$ ,  $p=0,04$ ) и от 45-59 лет ( $\chi^2=6,49$ ,  $df=1$ ,  $p=0,01$ ).



**Рисунок 19.** Носительство генотипа *TT* однонуклеотидного варианта гена *SCN7A* (rs7565062). Примечание: «AG» — группа пациентов с артериальной гипертензией, «K» — группа контроля

В возрастном диапазоне 45-59 лет (рисунок 20) носительство генотипа *CC* однонуклеотидного варианта гена *SCNN1G* (rs4401050) встречается чаще ( $\chi^2=1,37$ ,  $df=1$ ,  $p=0,24$ ), в отличие от возрастной группы 18-44 лет ( $\chi^2=17,62$ ,  $df=1$ ,  $p<0,01$ ).



**Рисунок 20.** Носительство генотипа *CC* однонуклеотидного варианта гена *SCNN1G* (rs4401050). Примечание: «АГ» — группа пациентов с артериальной гипертензией, «К» — группа контроля

При рассмотрении группы контроля и группы пациентов с АГ, с учетом разделения на возрастные группы, увеличивается вероятность развития АГ начиная с 45 до 59 лет (таблица 25).

Таблица 25

**Ассоциации генотипов однонуклеотидных вариантов генов-кандидатов (rs11064153) *SCNN1A*, (rs4401050) *SCNN1G* и (rs7565062) *SCN7A* с эссенциальной артериальной гипертензией в рамках возрастных групп**

Параметр оценки вероятности развития артериальной гипертензии	Сравнение группы контроля с исследуемой группой	
	в возрасте от 18 до 44 лет	в возрасте от 45 до 59 лет
<b>Вероятность развития ЭГ у носителей аллели T SNV rs11064153 гена <i>SCNN1A</i></b>		
Шанс найти фактор риска в исследуемой группе	2,824	3,621
Шанс найти фактор риска в группе сравнения	2,471	1,457
Отношение шансов (OR)	1,143	<b>2,485</b>
Стандартная ошибка отношения шансов (S)	0,285	0,304
Нижняя граница 95% ДИ (CI)	0,654	<b>1,370</b>
Верхняя граница 95% ДИ (CI)	1,997	<b>4,505</b>
Уровень значимости (p)	0,640	<b>0,003</b>

<b>Вероятность развития ЭГ у носителей аллели С SNV rs4401050 гена SCNN1G</b>		
Шанс найти фактор риска в исследуемой группе	2,824	5,381
Шанс найти фактор риска в группе сравнения	2,122	1,439
Отношение шансов (OR)	1,331	<b>3,739</b>
Стандартная ошибка отношения шансов (S)	0,275	0,313
Нижняя граница 95% ДИ (CI)	0,776	<b>2,026</b>
Верхняя граница 95% ДИ (CI)	2,828	<b>6,902</b>
Уровень значимости (p)	0,299	<b>&lt;0,001</b>
<b>Вероятность развития ЭГ у носителей аллели Т SNV rs7565062 гена SCN7A</b>		
Шанс найти фактор риска в исследуемой группе	0,863	0,763
Шанс найти фактор риска в группе сравнения	0,544	0,458
Отношение шансов (OR)	1,584	0,668
Стандартная ошибка отношения шансов (S)	0,256	0,290
Нижняя граница 95% ДИ (CI)	0,960	0,944
Верхняя граница 95% ДИ (CI)	2,618	2,947
Уровень значимости (p)	0,071	0,078

С учетом полученных результатов можно сделать вывод, что увеличивается вероятность развития АГ у носителей аллели С варианта rs4401050 гена SCNN1G (ОШ = 2,49 [95% ДИ 1,37-4,51],  $p = 0,003$ ) и носителей аллели Т однонуклеотидного варианта rs11064153 гена SCNN1A (ОШ = 3,74 [95% ДИ 2,03-6,90],  $p < 0,001$ ) эпителиальных натриевых каналов. Между тем, носительство аллели Т варианта rs7565062 гена SCN7A потенциал-зависимых натриевых каналов статистически значимо не сказывалось на вероятности развития АГ (ОШ = 0,67 [95% ДИ 0,94-2,95],  $p = 0,078$ ).

Кроме этого, изучено три выборки в исследуемых группах, имеющих генотипы *TT*, *TC* и *CC* SNV rs11064153 гена SCNN1A, оказывающих влияние на внутриклеточное содержание ионов  $\text{Na}^+$  у пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией и здоровых лиц (таблица 26).

Таблица 26

**Влияние генотипов SNV rs11064153 гена SCNN1A на [Na<sup>+</sup>]<sub>i</sub> у пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией и здоровых лиц**

Показатель	Исследуемая группа	Генотипы SCNN1A (rs11064153)			Тестовая статистика Краскела-Уоллиса
		TT n=119	TC n=112	CC n=10	
MFI-30 [Na <sup>+</sup> ] <sub>i</sub> , RFU	Группа АГ	165,5 (139,0; 196,0)	230,0 (227,0; 257,0)	223,0 (200,0; 247,0)	H=12,84, df=2, <b>p=0,002</b>
	Группа контроля	236,0 (231,0; 246,0)	201,0 (196,5; 227,0)	256,0 (249,0; 274,0)	H=22,0, df=2, <b>p&lt;0,001</b>
<b>Тестовая статистика Манна-Уитни</b>		<b>U<sub>TT</sub>=176,5 p<sub>TT</sub>&lt;0,001</b>	<b>U<sub>TC</sub>=59,5 p<sub>TC</sub>=0,03</b>	<b>U<sub>CC</sub>=0,5, p<sub>CC</sub>=0,08</b>	сравнение исследуемых генотипов  попарное сравнение групп
MFI-60 [Na <sup>+</sup> ] <sub>i</sub> , RFU	Группа АГ	345,5 (311,8; 401,5)	369,0 (351,0; 424,5)	356,0 (313,0; 380,0)	H=3,04, df=2, p=0,22
	Группа контроля	373,0 (356,0; 379,5)	373,0 (369,0; 383,0)	376,0 (281,0; 400,0)	H=0,04, df=2, p=0,98



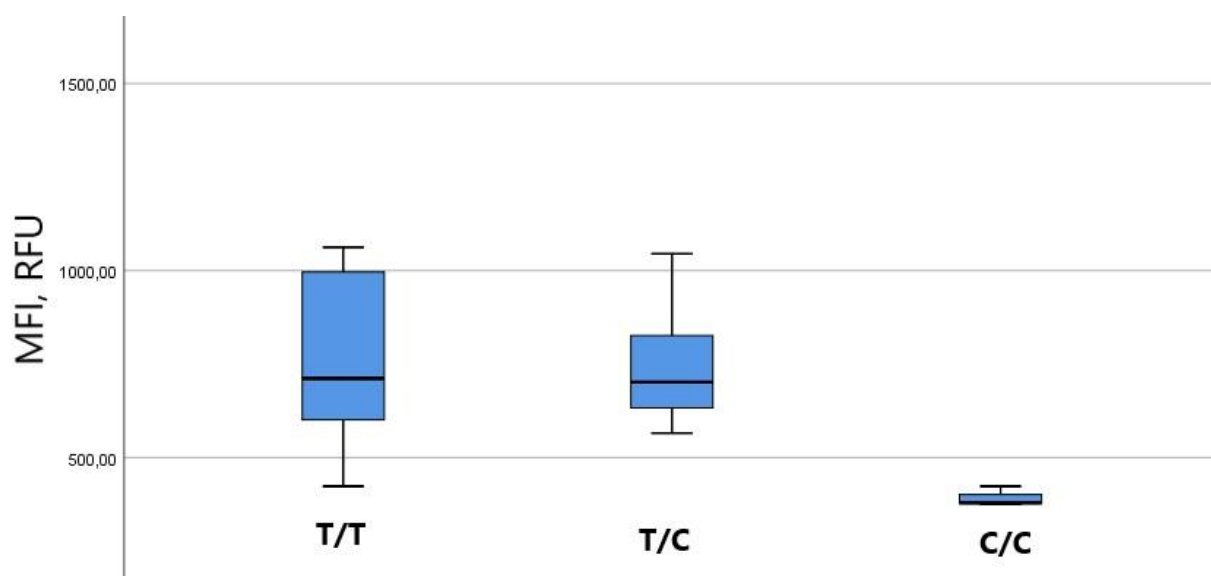
Продолжение таблицы 26

Показатель	Исследуемая группа	Генотипы SCNN1A (rs11064153)			Тестовая статистика Краскела-Уоллиса
		<i>TT</i> n=119	<i>TC</i> n=112	<i>CC</i> n=10	
<b>Тестовая статистика Манна-Уитни</b>		$U_{TT}=307,0$ $p_{TT}=0,052$	$U_{TC}=133,5$ $p_{TC}=0,71$	$U_{CC}=4,0$ $p_{CC}=0,83$	сравнение исследуемых генотипов  попарное сравнение групп
MFI-120 [Na <sup>+</sup> ]i, RFU	Группа АГ	711,5 (594,0; 996,0)	702,0 (629,5; 840,0)	379,0 (375,0; 417,0)	$H=8,33$ , $df=2$ , <b><math>p=0,016</math></b>
	Группа контроля	493,0 (442,0; 536,0)	733,0 (693,0;775,5)	513,0 (379,0; 580,0)	$H=24,61$ , $df=2$ , <b><math>p&lt;0,001</math></b>
<b>Тестовая статистика Манна-Уитни</b>		$U_{TT}=86,5$ <b><math>p_{TT}&lt;0,001</math></b>	$U_{TC}=139,0$ $p_{TC}=0,85$	$U_{CC}=1,5$ $p_{CC}=0,18$	сравнение исследуемых генотипов  попарное сравнение групп

**Примечание:** MFI [Na<sup>+</sup>]i – средняя интенсивность флуоресценции ионов Na<sup>+</sup> в LDN, зафиксированная : MFI-30 – через 30 минут; MFI-60 – через 60 минут, MFI-120 – через 120 минут от начала исследования; U – критерий Манна-Уитни, который использовался для попарного сравнения пациентов в группе АГ и лиц в группе контроля; H – критерий Краскела-Уоллиса, который использовался для

сравнения трех выборок в исследуемых группах, имеющих генотипы *TT*, *TC* и *CC*;  $p$  – уровень статистической значимости.

Анализируя изменения уровня средней интенсивности флуоресценции ионов натрия у пациентов с АГ, установлено, что уровень MFI  $[Na^+]_i$  на 120 минуте исследования у носителей генотипа *TT* гена *SCNN1A* (rs11064153) был в 1,01 [1,06;1,19] раза выше, чем у пациентов с генотипом *TC* ( $U_{TT-TC}=387,0$ ,  $p_{TT-TC}<0,001$ ). А уровень MFI  $[Na^+]_i$  у пациентов с генотипом *TC* также превышал таковой ( $U_{TC-CC}=17,0$ ,  $p_{TC-CC}<0,001$ ), по сравнению с носительством генотипа *CC* в 1,22 [1,03;1,63] раза (рисунок 21).



**Рисунок 21.** MFI  $[Na^+]_i$  – уровень средней интенсивности флуоресценции ионов натрия внутри клетки на 120 минуте исследования у пациентов с АГ, RFU – единицы измерения MFI; T/T – пациенты с АГ, носители генотипа *TT*; T/C – пациенты с АГ, носители генотипа *TC*; C/C – пациенты с АГ, носители генотипа *CC* гена *SCNN1A* (rs11064153)

На основании вышеизложенного, можно сделать вывод, что носительство генотипа *TT* гена *SCNN1A* (rs11064153), ассоциированного с вероятностью развития АГ, сопровождалось увеличением внутриклеточного содержания ионов  $Na^+$  и, как следствие, связано с развитием АГ.

### 3.5 Модель прогнозирования развития артериальной гипертензии

В настоящее время задача прогнозирования функционального состояния сложных систем является актуальной в области медицинских исследований. Недавние исследования показали, что алгоритмы нейросетевого анализа имеют во много раз более высокую предсказательную силу по сравнению с традиционными методами статистического анализа [153, 216]. Реальный вклад отдельно взятого однонуклеотидного варианта в развитие мультифакторной патологии сравнительно невелик [182]. Другими словами, чтобы выявить ассоциацию генетического фактора (SNV) с вероятностью развития АГ, необходимо рассматривать совокупность множества генов, вовлеченных в сложные механизмы патогенеза, факторы внешней среды и клинико-анамнестические данные.

Учитывая тот факт, что в группе пациентов с АГ частота встречаемости определенных аллелей и генотипов, изучаемых в данной работе, однонуклеотидных вариантов rs11064153 (SCNN1A), rs4401050 (SCNN1G), rs7565062 (SCN7A) генов натриевых каналов была значительно выше по сравнению с группой здоровых лиц, данные предикторы выбраны как важные параметры для создания модели прогнозирования развития АГ. Так же в модель включен такой параметр, как уровень MFI ионов  $\text{Na}^+$ , зафиксированный в нейтрофилах низкой плотности через 120 мин от начала исследования, который в группе пациентов с АГ был существенно выше, по сравнению с группой контроля ( $U = 643,5$ ;  $p < 0,001$ ).

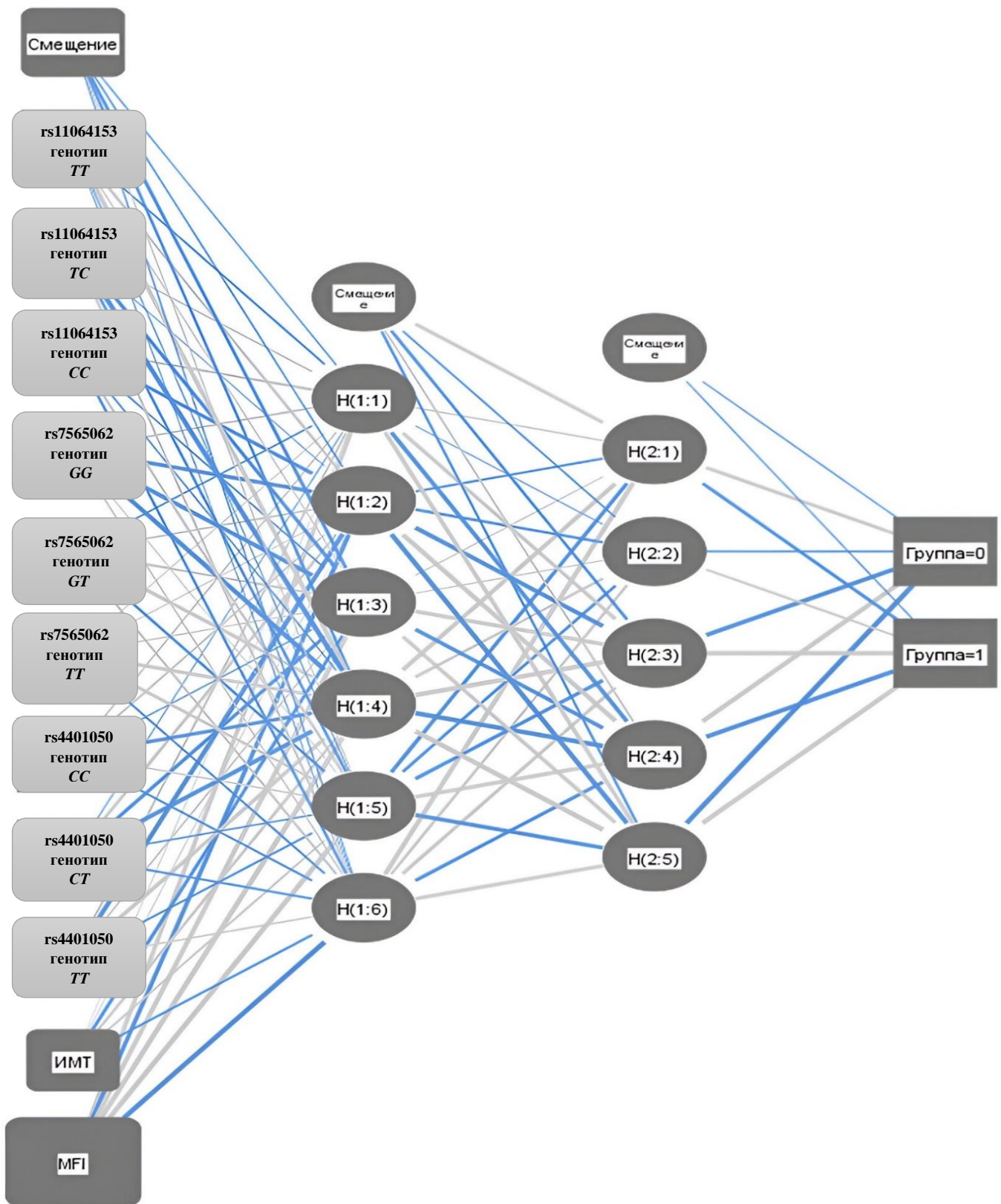
Таким образом, нейросетевой анализ проводили по 5-ти параметрам, выбранным на основании их важности, далее указанные параметры вносили в программу SPSS, имеющую модуль Neural Networks, получали оценку вероятности развития АГ.

Технология прогнозирования развития АГ реализована на базе многослойного персептрона, процент неверных предсказаний в процессе обучения которого составил 9,1%. Исходя из значений нормализованной важности исследуемых показателей, в структуру обучаемой нейронной сети были включены

5 входных нейронов, в качестве которых выступали параметры исследования, имеющие не только значимые различия при сравнении исследуемых групп, но и патогенетическое значение: генотипы *TT*, *TC* и *CC* rs11064153 гена *SCNN1A*; генотипы *CC*, *CT* и *TT* rs4401050 гена *SCNN1G*; генотипы *GG*, *GT* и *TT* rs7565062 гена *SCN7A*; ИМТ, а также уровень MFI для ионов натрия в нейтрофилах низкой плотности, зафиксированный через 120 мин от начала исследования.

В архитектуру многослойного персептрона, учитывая число входных нейронов, включено 2 скрытых слоя. Выбор архитектуры выполнялся автоматически, что позволило вычислить оптимальное количество нейронов в указанных скрытых слоях, равное 6 и 5 соответственно, и максимально эффективно прогнозировать исход.

В обоих скрытых слоях и в выходном слое использовалась сигмоидная функция активации, что определяло взаимосвязь взвешенных сумм объектов с последующим слоем значений данных объектов. Сигмоидная функция в выходном слое переводила действительные переменные в диапазон (0;1), что соответствует дизайну исследования. Выходной слой содержал 2 целевые (зависимые) переменные: наличие или отсутствие АГ. В качестве функции ошибки была выбрана сумма квадратов. Архитектура разработанной нейронной сети представлена на рисунке 22.



**Рисунок 22.** Конфигурация многослойного персептрона, позволяющая прогнозировать развитие артериальной гипертензии. Примечание: Группа = 0 – группа контроля, Группа = 1 – группа АГ, Н – нейроны, входящие в скрытые слои

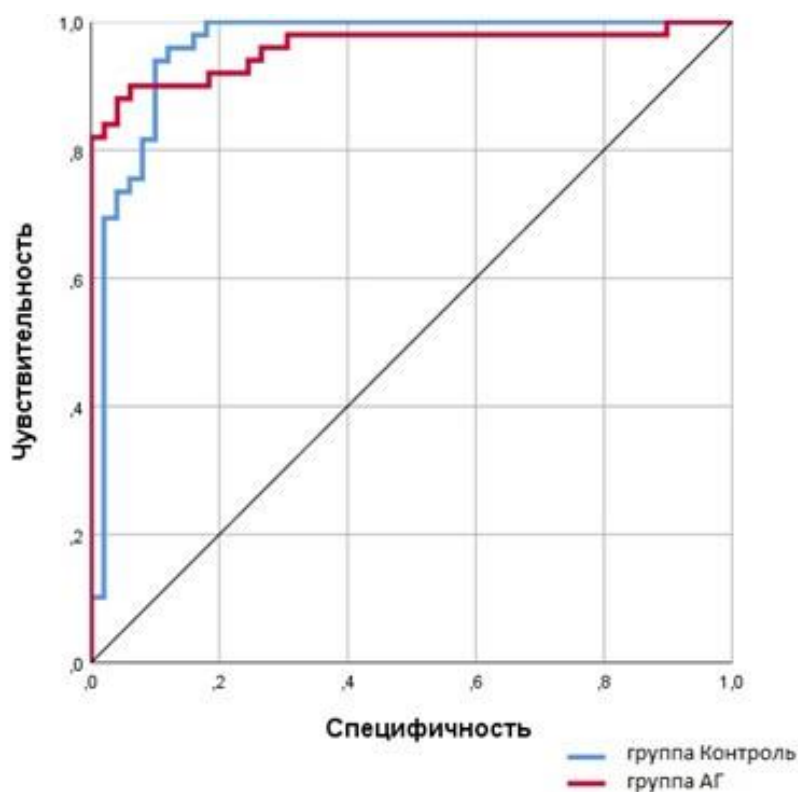
Для подтверждения оптимальности выбора исходной архитектуры многослойного перцептрона использовали кросс-валидацию, которая позволяет оценить производительность модели с различными параметрами архитектуры. Подтверждение значимости проводилось путем оценки параметров разработанной нейронной сети (таблица 27).

Таблица 27

**Параметры нейронной сети, позволяющие прогнозировать развитие артериальной гипертензии**

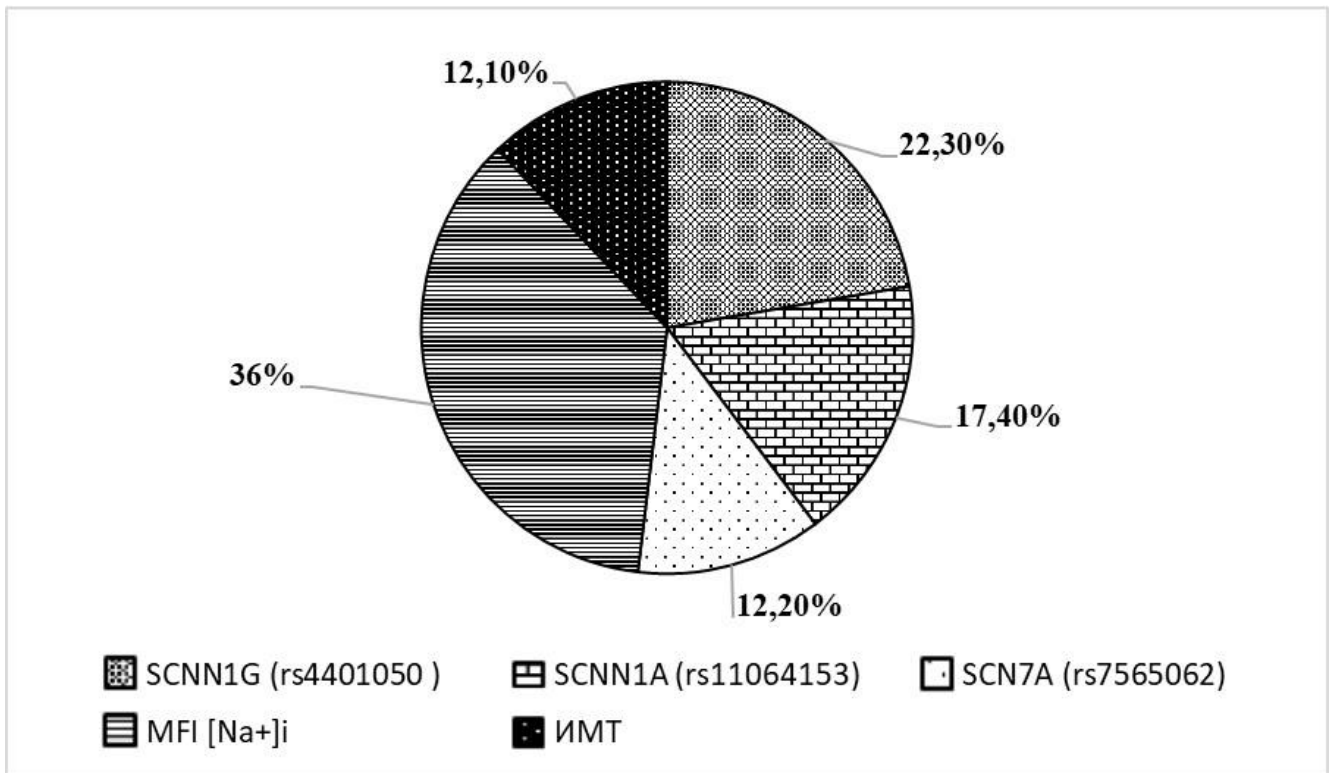
Предиктор		Предсказанные			
		Скрытый слой 1			Скрытый слой 2
		H(1:1)	H(1:2)	H(1:3)	H(2:1)
Входной слой	(Смещение)	0,694	-0,111	0,594	—
	rs11064153 (T/T)	2,536	-0,656	-0,233	—
	rs11064153 (T/C)	-0,410	-0,535	0,372	—
	rs11064153 (C/C)	-0,894	0,741	-0,407	—
	rs4401050 (C/C)	-1,231	0,563	0,410	—
	rs4401050 (T/C)	1,001	0,091	-0,333	—
	rs4401050 (T/T)	0,818	0,534	-0,484	—
	rs7565062 (G/G)	1,603	1,664	0,070	—
	rs7565062 (G/T)	-0,558	-2,330	0,345	—
	rs7565062 (T/T)	-0,212	0,761	0,246	—
	ИМТ	0,021	0,045	-1,188	—
	MFI-120, RFU	-0,921	2,942	-1,115	—
Скрытый слой 1	(Смещение)	—	—	—	1,507
	H(1:1)	—	—	—	5,450
	H(1:2)	—	—	—	-3,988
	H(1:3)	—	—	—	-0,096
Скрытый слой 2	(Смещение)	—	—	—	-0,501
	H(2:1)	—	—	—	5,543
	H(2:2)	—	—	—	1,814

Также обращает на себя внимание тот факт, что разработанная модель является эффективной относительно прогноза развития гипертензии и характеризуется высокой точностью прогноза, равной 90,9% (чувствительность (Se) = 91%, специфичность (Sp) = 91%, ROC-AUC = 0,96 [95% ДИ 0,91-0,98],  $p < 0,001$ ). Процент неверных предсказаний составил 9,1%, что согласуется с результатами обучения нейронной сети и подтверждается результатами ROC-анализа (рисунок 23). В нормированном пространстве площадь под ROC-кривой эквивалентна вероятности, что нейронная сеть свидетельствует о приемлемой диагностической точности модели.



**Рисунок 23.** Оценка информативности нейронной сети, позволяющая прогнозировать развитие АГ. Примечание: группа АГ – группа пациентов с АГ

Наибольшей важностью в структуре разработанной модели обладали: уровень MF1 ионов натрия через 120 минут от начала исследования; исследуемые варианты однонуклеотидных замен в генах натриевых каналов – rs4401050 (SCNN1G), rs11064153 (SCNN1A), rs7565062 (SCN7A) и ИМТ (рисунок 24).



**Рисунок 24.** Оценка уровня важности параметров исследования (входных нейронов) в структуре прогностической модели

Обращает на себя внимание то, что при исключении из структуры нейронной сети такого параметра, как ИМТ, точность прогноза снижается до 89% (91/88), что определяет его значимую прогностическую роль. Однако по степени важности ИМТ находится на последнем месте (12,10%) в структуре разработанной модели, что говорит о первостепенной роли изучаемых генетических вариантах натриевых ионных каналов. Для подтверждения оптимального выбора исходной архитектуры многослойного перцептрона использовали кросс-валидизацию, которая позволяет оценить производительность модели с различными параметрами архитектуры. В ходе сравнения моделей было определено, что исходный вариант имеет наиболее высокую точность во всех фолдах. В процессе тестирования нейронной сети на выборке пациентов, сформированной методом Random Split и включающей 241 человек, процент неверных предсказаний составил 10,1% (24/241).



В настоящей работе была предпринята попытка оценить предполагаемую связь однонуклеотидного варианта гена эпителиальных натриевых каналов SCNN1A (rs11064153) с вероятностью развития АГ. Установлено, что носительство аллели Т и генотипа *TT* варианта rs11064153 гена SCNN1A увеличивает вероятность развития АГ. Настоящее исследование позволяет сделать вывод о наличии связи однонуклеотидного варианта rs11064153 гена SCNN1A с изменением внутриклеточного содержания ионов натрия и, как следствие, с вероятностью развития АГ. Результаты данного исследования также показали, что в группе больных АГ носительство *TT* генотипа содержание ионов  $\text{Na}^+$  внутри клетки выше, чем у пациентов с генотипами *CC* и *TC* варианта rs11064153 гена SCNN1A, что подтверждается изменением уровня средней интенсивности флуоресценции  $[\text{Na}^+]_i$ .

Создана модель прогнозирования развития артериальной гипертензии на основе молекулярно-генетических предикторов. Выделены 5 наиболее значимых параметров, которые были использованы для создания модели прогноза развития АГ на основе нейросетевой технологии. Следовательно, SNV rs11064153 гена SCNN1A; SNV rs4401050 гена SCNN1G эпителиальных натриевых каналов; а также SNV гена SCN7A (rs7565062) потенциал-управляемых натриевых каналов в сочетании с изменением уровня MFI ионов натрия – играют важную роль в развитии АГ.

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

По данным Всемирной организации здравоохранения ССЗ являются главной причиной смертности населения и приводят к инвалидизации человека. Отражая мировую тенденцию, число заболевших АГ удвоилось и поднялось с шестнадцатого места среди основных причин смерти в 2000 году на десятое в 2021 году [189].

Проведенные генетические исследования в последнее десятилетие демонстрируют, что в патогенезе развития АГ принимают участие гены, влияющие на функцию ионных каналов [41]. Существенный прогресс был достигнут в области геномики, в которой полногеномные ассоциативные исследования выявили более 50 однонуклеотидных вариантов, связанных с изменением АД, и выявили новые пути в системе регуляции давления [80]. Большая часть изменчивости генома человека определяется SNV, представляющие собой структурные вариации одного нуклеотида, которые встречаются в определенном положении генома [211]. Полногеномные ассоциативные исследования выявили редкие геномные варианты, влияющие на 26% варибельности АД в популяции [149].

Начиная с 2007 года, многочисленные исследования выявили более 200 миссенс-мутаций, которые влияют на работу различных видов ионных натриевых каналов и вызывают расстройства их возбудимости или каналопатии [106]. Каналопатии представляют собой нарушения, вызванные аномальной функцией ионных каналов в дифференцированных возбудимых тканях. Хотя эти нарушения встречаются редко, они являются примером того, как генетически измененные белки оказывают сильное влияние на функционирование натриевых каналов. К настоящему времени, популяционные исследования выявили около 1000 генетических вариантов, играющих роль в классических механизмах регуляции

АД, таких как вазоконстрикция, реабсорбция натрия и активность симпатической нервной системы [149, 157].

Большое количество генетических локусов, идентифицированных на сегодняшний день, потенциально может дать ключевое понимание патофизиологических механизмов АГ. Однако большинство однонуклеотидных вариантов генов ионных натриевых каналов не охарактеризовано, и их функциональные свойства остаются неизвестными [130], также их роль в патогенезе АГ до сих пор не описана в российской научной литературе, а публикаций в зарубежной научной литературе очень мало.

В рамках проведенного нами молекулярно-генетического исследования перспективным представляется оценка SNV rs11064153 гена SCNN1A, SNV rs4401050 гена SCNN1G, SNV rs7565062 гена SCN7A, наличие которых ряд авторов относят к категории высокого риска развития АГ [42, 98]. Мы описали встречаемость SNV генов, которые определяют аминокислотную последовательность транслируемых белков потенциал-управляемых и механозависимых эпителиальных натриевых каналов. Мы определили содержание внутриклеточного  $\text{Na}^+$  у носителей различных генотипов и аллелей варианта rs11064153 гена SCNN1A.

Полученные в нашей работе данные продемонстрировали, что вариант rs11064153, расположенный в 5'-фланкирующей области SCNN1A, вовлечен в регуляцию АД. Нами подтверждено, что в исследуемой выборке носительство генотипа *TT* гена SCNN1A в гомозиготной форме увеличивает вероятность развития АГ у пациентов, проживающих в Забайкальском крае, что подчеркивает потенциально важный вклад гена SCNN1A и дополняет наше понимание генетической архитектуры прогрессирования АГ [3]. Впоследствии представляется целесообразным более подробное изучение роли вариантов генов, кодирующих субъединицы натриевых каналов, в регуляции АД и развития ССЗ, в частности АГ.

Научные данные свидетельствуют, что  $\alpha$ -субъединица ENaC, кодируемая SCNN1A, участвует в проводимости ионов натрия, тогда как  $\beta$ - и  $\gamma$ -субъединицы, кодируемые SCNN1B и SCNN1G, по-видимому, играют структурную и

регуляторную роль при совместной экспрессии с  $\alpha$ -субъединицей. Ранее проведенные исследования также установили, что SNV rs13306613 гена SCNN1A связан с повышением ДАД, а rs12447134 SCNN1B связан с САД в соответствии с кодоминантной моделью. Кроме того, варианты rs11064153 гена SCNN1A и rs4401050 гена SCNN1G были ассоциированы с высоким риском АГ и связаны с изменениями уровня САД [41]. В исследовании 2002 года Iwai N. [39] также было выдвинуто предположение о том, что генетические варианты SCNN1A могут приводить к повышенному риску развития АГ. Авторы идентифицировали варианты последовательности в SCNN1A и изучили связь между этими SNV и АД в когорте из 3898 человек моложе 60-ти лет, представляющих общую популяцию Японии. Было обнаружено, что генотип G(2139)A связан с повышением АД. Сильная связь этого полиморфизма с АД в более молодых субпопуляциях убедительно подтверждает концепцию о том, что этот генотип действительно является фактором риска гипертонии. Таким образом ученые доказали, что более низкий уровень экспрессии субъединицы SCNN1A среди лиц с генотипом AA может обеспечить защиту от развития АГ. Отмечено, что более тщательный скрининг вариантов, охватывающий весь ген SCNN1A, включая интронные последовательности, может потребоваться для определения механизма наблюдаемой связи между геном SCNN1A и АГ.

Доказательства того, что однонуклеотидные варианты генов SCNN1A и SCNN1G значительно связаны с изменениями АД были продемонстрированы Хуели Yang и соавторами в исследовании GenSalt в 2014 году, проводимом в общей сложности на 2755 ханьских китайцев [42]. В указанной научной работе представлены первые доказательства связи SNV rs4401050, расположенного в интронной области SCNN1G, и SNV rs11064153 в 5'-фланкирующей области SCNN1A, с изменениями САД. Эти данные подчеркивают потенциально важный вклад данных генов в регуляцию АД. Данный факт согласуется с результатами наших исследований [18] и подтверждает, что изменение  $\gamma$ -субъединицы, вследствие точечной замены нуклеотидов ДНК rs4401050 SCNN1G, вызывает дисфункцию каналов ENaC.

В исследовании «случай-контроль», проведенном в 2019 году с участием 615 гипертоников и 617 нормотоников, авторы [24] изучали взаимосвязь между SNV rs3791251, rs6738031 и rs7565062 гена *SCN7A* и АГ в популяции северных китайцев хань.  $Na_x$ ,  $\alpha$ -субъединица натриевого канала, кодируемая геном *SCN7A*, считается датчиком концентрации ионов натрия в клетках нервной системы. Значимая связь между SNV rs7565062 гена *SCN7A* и АГ была обнаружена в рамках аддиктивной и доминантной генетических моделях, так как частота аллели T была выше в группе с АГ, чем в группе контроля. В нашем исследовании при изучении связи варианта rs7565062 (*SCN7A*) с АГ частота генотипа *TT* была значительно выше у пациентов с АГ ( $p=0,001$ ) по сравнению с группой контроля. Таким образом, вероятно, SNV rs7565062 оказывает влияние на риск развития АГ.

В другом исследовании «случай-контроль» Kui-xing Zhang и его коллеги [40] идентифицировали 22 SNV в гене *SCN7A* (среди них семь находились в регуляторной области, десять — в кодирующей области, один — в 3'-нетранслируемой области и четырнадцать — в интронах), связанных с ЭГ у китайской ханьской популяции. Таким образом ученые доказали, что роль гена *SCN7A* в механизмах регуляции АД заслуживает дальнейшего анализа. Последующие исследования также установили, что SNV rs13306613 гена *SCNN1A* связаны с повышением ДАД, а rs12447134 *SCNN1B* — с САД [41].

В обзоре, проведенном В.М. Blobner и соавт. [191], было представлено 3972 варианта гена *SCNN1A*, 12334 — *SCNN1B*, 2405 — *SCNN1D* и 4093 — *SCNN1G*. Была обнаружена значимая генетическая связь с некоторыми вариантами гена *SCNN1A* с ДАД и САД у пациентов с АГ, но не выявлена связь этих вариантов со СрАД и пульсовым АД. Однонуклеотидные варианты гена *SCNN1B* были достоверно связаны с ДАД и СрАД, а *SCNN1D* связаны со всеми четырьмя фенотипами АД: САД, ДАД, пульсовым АД и СрАД. В ходе исследования были получены данные о том, что изучаемые варианты гена *SCNN1G* не ассоциированы ни с одним из четырех фенотипов АД.

Натриевые каналы оказывают существенное влияние на нормальное функционирование клеток, участвуя в регуляции физиологических функций, таких

как изменение уровня АД. Однако сегодня недостаточно сведений о молекулярных механизмах влияния натриевых каналов на изменение внутриклеточного гомеостаза натрия и регуляцию АД. При сравнении групп пациентов с АГ и участников группы контроля в нашем исследовании выявлены различия при измерении показателя уровня MFI, что может говорить о различном внутриклеточном содержании ионов  $\text{Na}^+$  соответственно. Уровень MFI в группе АГ в 1,3 раза выше по сравнению с группой контроля. Также обнаружено, что в группе пациентов носителей генотипа *TT* гена *SCNN1A* (rs11064153) уровень MFI ионов  $\text{Na}^+$  превышен в 1,01 раз в сравнении с носителями генотипов *CC* и *TC*. Причиной подобных нарушений натриевого тока при носительстве генотипа *TT* в локусе rs11064153, возможно, является интронная локализация SNP. В научных исследованиях доказано, что интронные участки генов обладают высокой значимостью в сплайсинге mRNA [2]. Установлено, что носительство генотипа *TT* в локусе rs11064153 варианта гена *SCNN1A* влияет на развитие  $\text{Na}^+$ -каналопатии, которая сопровождается повышенной проницаемостью для ионов  $\text{Na}^+$  эпителиальных механозависимых каналов с изменённой порообразующей субъединицей каналов –  $\alpha$ , что ведёт к повышению содержания внутриклеточного  $\text{Na}^+$  в ГМК. Обнаружено, что обратный эффект вызывает носительство генотипа *CC* в локусе rs11064153 однонуклеотидного варианта гена *SCNN1A*, которое способствует поддержанию физиологических значений уровня внутриклеточного  $\text{Na}^+$ , сохраняя норморегуляцию потока этого иона механозависимыми натриевыми каналами, что связано с неизменённой порообразующей  $\alpha$ -субъединицей ENaC. Так физиологическое поступление  $\text{Na}^+$  внутрь ГМК способствует поддержанию их нормотонуса, сохраняя ОПСС, а следовательно, и АД.

Данный факт согласуется с результатами научной работы Erika Reus-Chavarría, выполненной в 2019 году [92], где авторы с использованием проточной цитометрии и других методов предположили, что увеличение функциональной активности ENaC способствует внутриклеточной задержке  $\text{Na}^+$ , что приводит к повышению АД. В своем исследовании они доказали, что сверхэкспрессия гена, кодирующего альфа-субъединицу ENaC, способствует увеличению содержания

этого типа каналов на мембране клеток у пациентов с АГ, что подтверждает актуальность результатов данного исследования.

В исследованиях, проводимых сотрудниками ФГБОУ ВО ЧГМА [16], было обнаружено, что носительство генотипа *GG* в локусе rs11079919 гена *CACNA1G* A50615794G способствует развитию  $Ca^{2+}$ -каналопатии, что ведёт к повышению уровня внутриклеточного  $Ca^{2+}$  гладкомышечной ткани сосудов, и перечисленные механизмы не обеспечивают должный возврат  $Ca^{2+}$  в компартменты. Повышенная остаточная внутриклеточная концентрация  $Ca^{2+}$  в патогенезе является триггером пролонгированного тонического сокращения и, следовательно, развития АГ. Носительство генотипа *AA* в локусе rs11079919 полиморфизма гена *CACNA1G* A50615794G, которое способствует поддержанию физиологических значений уровня внутриклеточного  $Ca^{2+}$ , сохраняет норморегуляцию потока этого иона потенциал-управляемыми кальциевыми каналами, что способствует поддержанию их нормотонуса, сохраняя ОПСС, а следовательно, АД.

В 2024 году появилось несколько работ [28, 123], в которых доказано, что  $\alpha$ -ENaC и кавеолин-1, а также их фосфорилированные формы были сверхэкспрессированы в нейтрофилах у пациентов с АГ, что может определять функциональную активность ENaC в сторону длительной активации канала и увеличения потока ионов натрия внутрь клетки. Эксперименты, проведенные в этом исследовании, показали, что повышенная экспрессия ENaC способствует входу  $Na^+$  и увеличению  $Ca^{2+}$ , что может приводить к эндотелиальной дисфункции. Таким образом, результаты подтверждают гипотезу о том, что нейтрофилы играют важную роль в развитии АГ. На основе полученных результатов исследования с помощью нейросетевого анализа нами была построена модель прогноза развития АГ. Отметим, что работы, включающие изучение различных генов, посвящены монолокусному анализу генов без оценки возможных межгенных взаимодействий.

В последнее время стали появляться работы, в которых изучаются комбинации генов, например, в исследовании Т.В. Калинкиной и соавт. [4]. Указанные авторы отмечают возможность прогнозирования диастолической дисфункции левого желудочка (ДД ЛЖ) у больных АГ на базе многослойного

персептрона на основании носительства полиморфизмов генов: ангиотензина — ACE (rs4646994), ангиотензиногена 1 — AGT: 521C>T (rs4766), ангиотензиногена 2 — AGT:704T>C (rs699), рецептора типа 1 ангиотензина-2 в гене AGTR1:A1166C; A>C, rs5186, эндотелина — EDN1 (rs5370), синтазы окиси азота — NOS3 -786T>C, rs2070744. Разработанная нейронная сеть обладает высокой ценностью для прогнозирования ДД ЛЖ у пациентов с АГ. Также ученые отмечают, что исследуемые полиморфизмы генов ACE и NOS3, выступающие в качестве входных нейронов, имеют одинаковую значимость в структуре нейронной сети. Исходя из значений предсказанной псевдовероятности, полученная нейросеть позволяет эффективно прогнозировать развитие ДД ЛЖ у больных АГ. Интересно, что в научной литературе, взаимосвязь SNV rs11064153 гена SCNN1A, SNV rs4401050 гена SCNN1G и SNV rs7565062 гена SCN7A с риском развития АГ не включались ни в одну из моделей нейросетевого анализа. В нашем исследовании наличие аллели T и генотипа *TT* однонуклеотидного варианта rs11064153 гена SCNN1A; аллели C и генотипа *CC* варианта rs4401050 гена SCNN1G эпителиальных натриевых каналов; а также присутствие аллели T и генотипа *TT* SNV гена SCN7A (rs7565062) потенциал-управляемых натриевых каналов в сочетании с изменением уровня MFI ионов натрия могут играть важную роль в развитии АГ, что подтверждает вероятность полигенной наследственной предрасположенности и комплексного влияния ассоциаций данных генов. Таким образом, было выявлено, что наибольшей важностью в структуре разработанной модели обладал уровень MFI ионов натрия, что может быть связано с однонуклеотидными заменами в генах натриевых каналов и изменением их экспрессии на поверхности мембраны клетки, что является предиктором развития АГ. Нами выделены 5 наиболее значимых параметров, которые были использованы для создания прогностической модели развития АГ на основе нейросетевой технологии.

Несмотря на то, что исследования однонуклеотидных вариантов натриевых ионных каналов показали генетическую связь с возможным развитием АГ, нет четкого представления о роли SNV натриевых каналов в патогенезе развития АГ. Ионнообменники и ионные помпы играют решающую роль в утилизации избытка



ионов, возникающих при формировании каждого ПД, а также в поддержании гомеостаза ионов внутри клетки. Натриевые каналы являются частью сложной сети регуляции сосудистой механотрансдукции и преобразователями механических стимулов во внутриклеточный биохимический ответ, таким образом, потенциально влияют на начало эндотелиальной дисфункции, и играют важную роль в механизме сокращения гладкой мускулатуры сосудов [97, 145]. Интересно то, что молекулярные основы клеточной механотрансдукции до сих пор недостаточно изучены [8]. Регулирование работы клеток сердечно-сосудистой системы постоянно подвергаются изменениям гидродинамических сил, возникающих на протяжении сосудистого русла, за счет повторяющихся сердечных сокращений и следующим током крови через системный и легочный кровотоки.

Эндотелиальные клетки (ЭК), выстилающие стенки сосудов, рассматриваются как важнейшие регуляторные элементы кровеносной системы. Эндотелиоциты являются механочувствительными клетками: непосредственно соприкасаясь с потоком крови, они способны детектировать информацию, возникающую в результате тока крови [11]. ЭК за счет щелевых контактов могут сопрягаться с ГМК сосудистой стенки, что, предположительно, формирует дополнительную систему управления сокращением последних [110, 115].

Таким образом, ЭК оказывают постоянное сосудорасширяющее действие на ГМК, чтобы противодействовать сужению, вызванному изменяющимся давлением; потеря этого взаимодействия между двумя слоями клеток способствует вазоконстрикции, которая, если она длительно сохраняется, прогрессирует до сосудистого ремоделирования и, возможно, развития АГ. Понимание механизмов механотрансдукции в ЭК и ГМК сосудов и их взаимодействия имеет ключевое значение для выяснения патофизиологической основы многих ССЗ и разработки эффективных методов лечения. Интересно, что и другие типы клеток в сердечно-сосудистой системе также воспринимают и передают механические силы, включая кардиомиоциты, эритроциты, лейкоциты, тромбоциты [118] и барорецепторные нервные окончания [248].

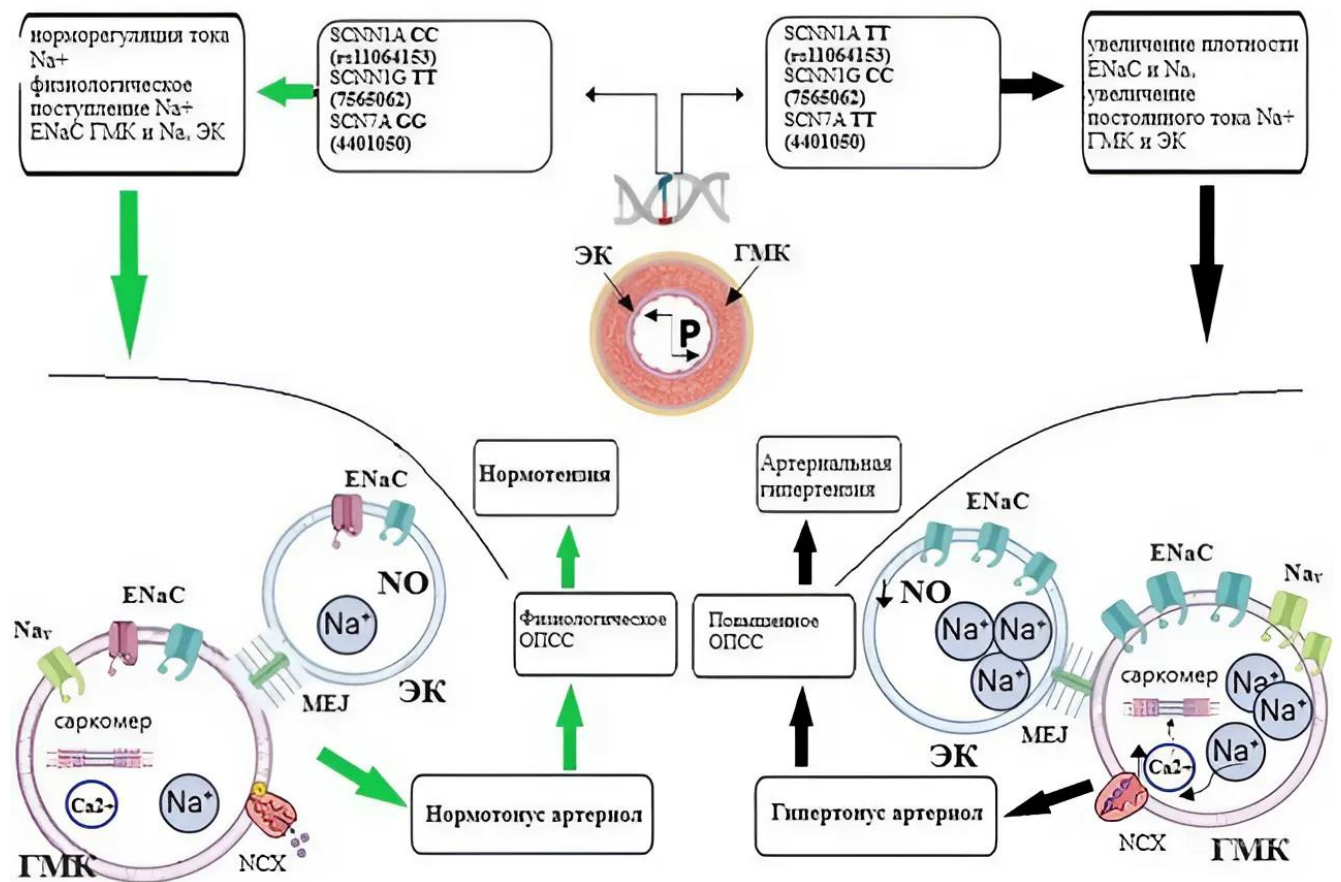
Артериальная ауторегуляция, как жизненно важный процесс, необходимый для защиты от повреждений, вызванных изменением АД [242], отвечает на гемодинамические изменения и также зависит от активности механозависимых ионных каналов. В обзоре Folgering Joost H.A. и соавт. подчеркивается, что белковые субъединицы ENaC участвуют в механотрансдукции ГМК сосудов [162]. Однако, по мнению некоторых авторов, роль субъединиц ENaC в механотрансдукции остается спорной, и необходимо продемонстрировать, что белки ENaC действительно образуют механочувствительный ионный канал в ГМК сосудов [104, 248]. За последние 20 лет исследований в этой области накоплено достаточно доказательств того, что белки ENaC могут функционировать как механосенсоры как в ЭК [95], так и в ГМК [85], а потенциал-зависимые  $Na_v$  экспрессируются и генерируют быстрый натриевый ток как в ЭК, так и в сосудистых ГМК [34, 161].

В исследованиях W.S. Ho и соавт. [88] фармакологическими, молекулярными и иммуноцитохимическими методами подтверждено, что активация каналов  $Na_v$  в миоцитах сосудистой стенки увеличивает внутриклеточное содержание ионов  $Na^+$ , которые затем вызывают приток  $Ca^{2+}$  через  $Na^+/Ca^{2+}$ -обменник. Последующий рост ионов  $Ca^{2+}$  вызывает активацию  $Ca^{2+}$ -активируемых каналов, что приводит к деполяризации мембраны, а последующий приток  $Ca^{2+}$  через потенциал-зависимые каналы  $Ca^{2+}$  приводит к вазоконстрикции. При повышенном уровне ионов натрия канал  $Na_x$  активирует мембранный белок простагин, который участвует в регуляции ENaC, что приводит к активации данного канала [117], таким образом усиливается ток ионов натрия.

В данном исследовании мы провели сравнительный анализ генетических однонуклеотидных вариантов генов SCNN1A (rs11064153), SCNN1G (rs4401050), SCN7A (rs7565062) у здоровых и больных АГ жителей Забайкальского края и описали встречаемость SNV генов белков потенциал-управляемых и эпителиальных натриевых каналов. Поскольку ENaC играет важную роль в регуляции гомеостаза  $Na^+$ , мы предположили, что ENaC может по-разному регулировать транспорт  $Na^+$  у пациентов с АГ и здоровых лиц. Для проверки этой

гипотезы мы определили содержание внутриклеточного  $\text{Na}^+$  в лейкоцитах у носителей различных генотипов и аллелей однонуклеотидного варианта rs11064153 гена SCNN1A эпителиальных натриевых каналов в исследуемых группах.

В настоящем исследовании выявлена патогенетическая роль однонуклеотидных вариантов генов SCNN1A (rs11064153), SCNN1G (rs4401050), SCN7A (rs7565062) натриевых ионных каналов в развитии АГ (рисунок 25).



**Рисунок 25.** Концептуальная схема патогенеза эссенциальной артериальной гипертензии с участием однонуклеотидных вариантов генов натриевых каналов. P – напряжение сдвига (SF, share stress), ЭК – эндотелиальная клетка, ГМК – гладкомышечная клетка сосудистой клетки (артериолы), ENaC – эпителиальные натриевые каналы, Na<sub>v</sub> – потенциал-зависимые натриевые каналы,

миоэндотелиальное соединение (MEJ, myoendothelial junction), NO – оксид азота,  $\text{Na}^+$  – ионы натрия,  $\text{Ca}^{2+}$  – ионы кальция

SCNN1A является геном, кодирующим аминокислотную последовательность порообразующей  $\alpha$ -субъединицы ENaC, а ген SCNN1G –  $\gamma$ -субъединицы.  $\beta$ - и  $\gamma$ -субъединицы ENaC, в отличие от  $\alpha$ -субъединицы, были идентифицированы на плазматической мембране ГМК сосудов [139], где они способствуют механизмам развития стойкой вазоконстрикции. Результаты научных экспериментальных работ Drummond H.A. и соавторов указывают на то, что как  $\beta$ - так и  $\gamma$ -субъединицы ENaC рассматриваются в качестве сенсоров сосудистой механотрансдукции [84]. Однако важную роль  $\alpha$ -субъединицы ENaC в вазоконстрикции можно объяснить возможностью экспрессироваться в другом типе клеток, например, ЭК [94, 96].

В классическом представлении напряжение сдвига (SF, shear stress) является одной из наиболее важных гемодинамических сил воздействия циркулирующей крови на ЭК артериол, его воздействие на стенки сосудов изменяет физиологию клеток эндотелия, что меняет транспортную активность механосенситивных ионных каналов в результате конформационных изменений в липидном бислое и доменах ворот самого канала [10, 253]. В качестве сенсора сдвиговой информации может выступать активация ENaC, что приводит к повышенной вероятности открытия канала [47], к увеличению пропускной способности канала и к модулируемым изменениям количества каналов на мембране ЭК [167].

Наличие  $\text{Na}^+$ -каналопатии сопровождается повышением уровня внутриклеточного  $\text{Na}^+$ , что влияет на жесткость артериальной стенки [248], ограничивая способность eNOS преобразовывать L-аргинин в NO (оксид азота), нарушая тем самым продукцию NO, как важнейшего регуляторного соединения, продуцируемого эндотелием, что приводит в дальнейшем к развитию вазоконстрикции. ЭК и ГМК в артериальной стенке разделены внутренней эластичной пластинкой (IEL, *internal elastic lamina*), которая формирует фенестрированный слой между этими клетками в интиме и меди и соответственно, тем самым образуя миоэндотелиальное соединение (MEJ, *myoendothelial junction*) в виде пальцеобразных или булавовидных цитоплазматических отростков в

основном от ЭК к ГМК или от ГМК к ЭК [91]. Внутрисосудистое давление оказывает механическое воздействие на ГМК сосудов, так как ЭК за счет щелевых контактов формирует дополнительную динамическую систему управления сокращением ГМК сосудистой стенки [11].

Мы предполагаем, что субъединицы ENaC образуют пору в ГМК и взаимодействуют с внеклеточным матриксом и белками цитоскелета, выстраивая более крупный механочувствительный комплекс и механически управляемый приток катионов ( $\text{Na}^+$  и, скорее всего,  $\text{Ca}^{2+}$ ), запускает вторичные пути передачи сигнала (фосфолипазы, ионные транспортеры). Все больше данных свидетельствуют о том, что повышение внутриклеточного содержания  $\text{Na}^+$  переводит  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменник (NCX,  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -exchanger) в обратный режим, что способствует агонист-опосредованному входу  $\text{Ca}^{2+}$  через плазматическую мембрану [212]. Перечисленные механизмы инициируют повышение внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$ , который в патогенезе развития ЭГ является триггером пролонгированного тонического сокращения. Эти результаты показывают, что в ГМК артериол «молчаливые» каналы  $\text{Na}_v$  представляют собой большой сократительный резерв для регуляции сосудистого тонуса [88]. Наши результаты показывают, что белки ENaC в ГМК могут способствовать локальной регуляции кровотока посредством миогенного сужения. Возникают нарушения базального сосудистого тонуса, на котором вазодилататоры и вазоконстрикторы могут двунаправленно регулировать кровоток. Такие изменения приводят к гипертонусу артериол, влекущему за собой повышение ОПСС и, следовательно, АД, вызывая развитие АГ, повышая постнагрузку на сердце и способствуя напряжению гомеометрических механизмов сердечной регуляции. Таким образом, наличие  $\text{Na}^+$ -каналопатии претендует на роль одного из основных звеньев патогенеза ЭГ, т.к. преобладание вазоконстрикторных влияний, возникшее в результате дефицита NO, приводит к повышению гладкомышечного тонуса артериол.

Хотя геномика потенциально перспективна с точки зрения содействия развитию взаимодействия генов, в то же время она предполагает необходимость продвижения в области клеточной и молекулярной биологии, такие как

эпигеномика, транскриптомика, протеомика и метаболомика. Эпигеномика нацелена на выяснение того, как факторы окружающей среды изменяют генетические тенденции контролировать АД; транскриптомика, протеомика и метаболомика могут пролить свет на то, как мы можем вмешиваться в клеточные механизмы с помощью изменения образа жизни, пищевых пристрастий, для совершенствования терапевтических эффектов лекарственных средств, которые могут действовать, стимулируя или ингибируя процессы транскрипции, активность микроРНК и образование белков, участвующих в контроле АД, чтобы мы могли более полно овладеть этой сложной системой контроля АД. Применение фармакогеномики уже можно считать вероятной возможностью повышения эффективности антигипертензивного лечения [38].

Полученные данные отражают взаимосвязь генетического варианта rs11064153 и rs4401050 гена SCNN1A и гена SCNN1G соответственно, а также SNV rs7565062 гена SCN7A натриевых ионных каналов и АГ. Присутствие аллели Т и генотипа *ТТ* однонуклеотидного варианта rs11064153 гена SCNN1A; аллели С и генотипа *СС* варианта rs4401050 гена SCNN1G эпителиальных натриевых каналов; а также присутствие аллели Т и генотипа *ТТ* SNV гена SCN7A (rs7565062) потенциал-управляемых натриевых каналов повышают вероятность развития ЭГ. Это новый вклад в патогенез ЭГ, который подтверждает уникальную функцию этого семейства белков как механосенсоров.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами результаты показали, что в патогенезе развития артериальной гипертензии принимают участие гены, влияющие на функцию ионных натриевых каналов. Натриевые каналы играют важную роль в регуляции сосудистого тонуса, который имеет ключевое значение в механизмах устойчивого повышения артериального давления. Регуляция сократительной активности гладкомышечных клеток сосудов зависит от сложного взаимодействия вазодилататорных и вазоконстрикторных стимулов, в этом процессе дисфункция натриевых каналов приводит к натриевой каналопатии. Несмотря на то, что эти нарушения встречаются редко, они являются примером того, как генетически измененные белки оказывают сильное влияние на функционирование натриевых каналов. Генетическая архитектура артериальной гипертензии состоит из ряда однонуклеотидных вариантов генов, обладающих небольшим, но кумулятивным эффектом. В данном молекулярно-генетическом исследовании отмечено, что изменение внутриклеточного содержания ионов натрия ассоциировано с генетическими вариантами натриевых каналов SCNN1A (rs11064153), SCNN1G (rs4401050) и SCN7A (rs7565062), которые принимают участие в развитии натриевой каналопатии, способствующей повышению тонуса сосудов, что вносит вклад в патогенез эссенциальной артериальной гипертензии. Генетические варианты в субъединицах канала или регуляторных путях, которые усиливают активность канала, способствуют повышению артериального давления у людей с эссенциальной гипертензией. Наличие аллели T и генотипа *TT* однонуклеотидного варианта rs11064153 гена SCNN1A; аллели C и генотипа *CC* rs4401050 гена SCNN1G эпителиальных натриевых каналов, а также присутствие аллели T и генотипа *TT* варианта rs7565062 гена SCN7A повышают вероятность развития артериальной гипертензии и могут служить как ее предикторы. Иной аспект, это наличие аллели C и генотипа *CC* варианта rs11064153 гена SCNN1A; аллели T и

генотипа *TT* гена *SCNN1G* (rs4401050) эпителиальных натриевых каналов, а также присутствие аллели *G* и генотипа *GG* однонуклеотидного варианта rs7565062 гена *SCN7A* снижают вероятность развития артериальной гипертензии.

Исходя из вышесказанного, данная научная работа соответствует приоритетному направлению научно-технологического развития Российской Федерации, в частности – «превентивная и персонализированная медицина, обеспечение здорового долголетия» (Указ Президента РФ от 18.06.2024 г. №529).



## ВЫВОДЫ

1. У пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией отмечено увеличение внутриклеточного содержания ионов натрия в 1,3 раза в сравнении с группой контроля.
2. В группе пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией регистрируется более частое носительство аллели Т и генотипа *TT* варианта rs7565062 гена *SCN7A*, аллели Т и генотипа *TT* варианта rs11064153 гена *SCNN1A*, аллели С и генотипа *CC* SNV rs4401050 гена *SCNN1G* натриевых каналов.
3. Внутриклеточное содержание ионов натрия у пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией носителей генотипа *TT* выше, чем у пациентов с генотипами *CC* и *TC* варианта rs11064153 гена *SCNN1A*.
4. Предрасполагающими факторами развития артериальной гипертензии является носительство аллели Т и генотипа *TT* однонуклеотидного варианта rs11064153 гена *SCNN1A*, аллели С и генотипа *CC* rs4401050 гена *SCNN1G*, аллели Т и генотипа *TT* варианта rs7565062 гена *SCN7A* в сочетании с изменением уровня средней интенсивности флуоресценции ионов натрия.

## ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Понимание молекулярных механизмов работы натриевых ионных каналов дает возможность выяснить причины развития натриевых каналопатий, приводящих к изменению гомеостаза ионов натрия и возникновению сердечно-сосудистых заболеваний. Перспективы дальнейшего развития проведенного исследования состоят в возможности разработки персонализированного подхода к диагностике артериальной гипертензии, совершенствованию процессов разработки лекарственных средств для лечения гипертензии и созданию патогенетически значимых критериев прогноза ее развития. Идентифицированные геномные варианты rs11064153 (SCNN1A), SNV rs4401050 (SCNN1G) и SNV rs7565062 (SCN7A) могут быть использованы для поиска множественных геномных вариантов, что является необходимым для изучения ассоциаций между генетическими вариантами, для развития персонализированного подхода терапии АГ.

Важным представляется изучение как врожденной, так и адаптивной иммунной системы в патогенезе артериальной гипертензии, поэтому изучение нейтрофилов, особенно гетерогенности нейтрофилов, имеет большое значение в области сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваний. Перспективным является изучение субпопуляции нейтрофилов, демонстрирующих более высокие уровни тока ионов  $\text{Na}^+$  у пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией. Таким образом, функции нейтрофилов, возможно рассматривать за рамками их фагоцитарной роли в ответ на патогенную инфекцию, включая различные механизмы, которые могут способствовать вазоконстрикции.

## ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

SNV – однонуклеотидный вариант

АГ – артериальная гипертензия

АД – артериальное давление

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

САД – систолическое артериальное давление

ДАД – диастолическое артериальное давление

РААС – ренин-ангиотензин-альдостероновая система

IEL – внутренняя эластичная пластинка

MEJ – миоэндотелиальное соединение

MFI – уровень средней интенсивности флуоресценции

RFU – относительные единицы флуоресценции

TTX – тетрадотоксин

а.о. – аминокислотные остатки

Na<sub>v</sub> – потенциал-зависимые натриевые каналы

ENaC – эпителиальные натриевые каналы

ПД – потенциал действия

SF – сила напряжения сдвига

СЛ – синдром Лиддла

ГМК – гладкомышечная клетка сосудистой стенки

ЭК – эндотелиальная клетка

ЭГ – эссенциальная артериальная гипертензия

NCX – Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup>-обменник

ОПСС – общее периферическое сопротивление сосудов

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Анализ демографической ситуации в Забайкальском крае за 2018 год // Министерство труда и социальной защиты населения Забайкальского края : [сайт]. – URL: <https://minsoc.75.ru/deyatelnost/sem-ya-i-deti/demograficheskaya-politika/monitoring-demograficheskoy-situacii/130047-analiz-demograficheskoy-situacii-v-zabaykal-skom-krae-za-2018-god> (дата обращения: 08.12.2018).
2. 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.
3. Исследование варианта rs11064153 гена SCNN1A у пациентов с артериальной гипертензией и у здоровых людей на территории Забайкальского края / З.А. Покоева, Б.С. Пушкарёв, О.В. Большакова [и др.]. – DOI 10.18705/1607-419X-2022-28-5-593-599 // Артериальная гипертензия. – 2022. – Т. 28, № 5. – С. 593-599.
4. Калинкина Т.В. Нейросетевой анализ в прогнозировании диастолической дисфункции левого желудочка у больных гипертонической болезнью / Т.В. Калинкина, Н.В. Ларёва, М.В. Чистякова // Вестник терапевта : электронное научное издание. – 2023. – № 2 (57). – URL: <https://journaltherapy.ru/statyi/nejrosetevoj-analiz-v-prognozirovanii-diastolicheskoy-disfunkcii-levogo-zheludochka-u-bolnyh-gipertonicheskoy-bolezni/> (дата обращения: 01.12.2024).
5. Калькулятор для расчета статистики в исследованиях "случай-контроль" // Статистические тесты: [сайт]. – URL: <https://www.cog-genomics.org/software/stats> (дата обращения: 27.11.2020).
6. Камкин А.Г. Атлас по физиологии : в 2 т. Т. 1. / А.Г. Камкин, И.С. Киселева. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 19 с. – ISBN 978-5-9704-2418-6.
7. Меморандум экспертов Российского кардиологического общества по рекомендациям Европейского общества кардиологов/Европейского общества

- по артериальной гипертензии по лечению артериальной гипертензии 2018г. / Ж.Д. Кобалава, А.О. Конради, С.В. Недогода [и др.]. – DOI 10.15829/1560-4071-2018-12-131-142 // Российский кардиологический журнал. – 2018. – № 12. – С. 131–142.
8. Механосенситивность различных клеток: возможная роль в регуляции и реализации эффектов физических методов лечения (обзор) / Ю.П. Потехина, А.И. Филатова, Е.С. Трегубова [и др.]. – DOI 10.17691/stm2020.12.4.10 // Современные технологии в медицине. – 2020. – Т. 12, № 4. – С. 77-86.
9. Мудров В.А. Алгоритмы статистического анализа данных биомедицинских исследований с помощью пакета программ SPSS (доступным языком) : учебное пособие. – Электрон. изд. – Москва : Логосфера, 2022. – 143 с. – Системные требования: электронное устройство с программным обеспечением для воспроизведения файлов формата PDF. – Загл. с титул. экрана. – текст: электронный. – ISBN 978-5-98657-088-4.
10. Напряжение сдвига на эндотелии стенки сонной артерии и кальциноз коронарных артерий у пациентов с гипертонической болезнью / Н.Ю. Лобанова, Е.Н. Чичерина, С.В. Мальчикова [и др.]. – DOI 10.21886/2712-8156-2022-3-3-60-67 // Южно-Российский журнал терапевтической практики. – 2022. – Т. 3, № 3. – С. 60-67.
11. Ответы эндотелиальных клеток на деформацию сдвига: механотрансдукция, клеточный стресс и деформация / А.А. Московцев, Д.В. Колесов, А.Н. Мыльникова [и др.]. – DOI 10.25557/IGPP.2017.4.8531 // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2017. – Т. 61, № 4. – С. 112-125.
12. Покоева З.А. Потенциал-управляемые натриевые ионные каналы. Альфа-субъединица / З.А. Покоева, Ю.А. Витковский. – DOI 10.52485/19986173\_2021\_2\_105 // Забайкальский медицинский вестник : электронное научное издание. – 2021. – № 2. – С. 105-116. – URL: <https://www.zabmedvestnik.ru/jour/article/view/75> (дата обращения: 17.09.2024).

13. Постгеномные аспекты резистентности к ацетилсалициловой кислоте у пациентов с ишемической болезнью сердца / Ю.И. Гринштейн, А.А. Косинова, А.Н. Мальцева [и др.]. – DOI 10.15829/1560-4071-2024-5667 // Российский кардиологический журнал. – 2024. – Т. 29, № 10. – С. 53-59.
14. Постнов Ю.В. Первичная гипертензия как патология клеточных мембран / Ю.В. Постнов, С.Н. Орлов. – Москва : Медицина, 1987. – 192 с.
15. Потенциал-управляемые натриевые ионные каналы. Бета-субъединица / З.А. Покоева, Б.С. Пушкарёв, О.В. Большакова, Ю.А. Витковский. – DOI 10.52485/19986173\_2022\_4\_114 // Забайкальский медицинский вестник : электронное научное издание. – 2022. – № 4. – С. 114-121. – URL: <https://www.zabmedvestnik.ru/jour/article/view/107> (дата обращения: 21.11.2024).
16. Пушкарёв Б.С. Влияние генетического полиморфизма кальциевых ионных каналов на внутриклеточную концентрацию ионов кальция у здоровых и больных артериальной гипертензией / Б.С. Пушкарёв, Ю.А. Витковский, П.П. Терешков. – DOI 10.52485/19986173\_2019\_3\_63 // Забайкальский медицинский вестник : электронное научное издание. – 2019. – № 3. – С. 63-71. – URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=41180206> (дата обращения: 05.12.2024).
17. Хроническая сердечная недостаточность у пациентов с артериальной гипертензией, ассоциированной с синдромом обструктивного апноэ во сне: возможные варианты патогенетической терапии / А.В. Яковлев, С.Н. Шилов, Е.Н. Березикова [и др.]. – DOI 10.20996/1819-6446-2021-06-07 // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2021. – Т. 17, № 3. – С. 444-449.
18. Частота аллелей и генотипов варианта гена SCNN1G (rs4401050) у пациентов с артериальной гипертензией / З.А. Покоева, Б.С. Пушкарёв, О.В. Большакова, Ю.А. Витковский. – DOI 10.52485/19986173\_2023\_4\_27 // Забайкальский медицинский вестник : электронное научное издание. – 2023. – № 4. – С. 27-33. – URL:

<https://www.zabmedvestnik.ru/jour/issue/view/11/showТоч> (дата обращения: 05.12.2024).

19. Шмидт Р. Физиология человека : в 2 т. Т. 1. / Р. Шмидт, Г. Тевс. – 2-ое издание. – Москва : Лаборатория знаний, 2019. – 537 с. – ISBN 978-5-906828-32-3.
20. A century of exercise physiology: effects of muscle contraction and exercise on skeletal muscle Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase, Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> ions, and on plasma K<sup>+</sup> concentration-historical developments / M.J. McKenna, J.M. Renaud, N. Ørtenblad, K. Overgaard. – DOI 10.1007/s00421-023-05335-9 // Eur J Appl Physiol. – 2024. – Vol. 124 (3) – P. 681-751.
21. A circulating inhibitor of (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>)ATPase associated with essential hypertension / J.M. Hamlyn, R. Ringel, J. Schaeffer [et al.]. – DOI 10.1038/300650a0 // Nature. – 1982. – Vol. 300 – P. 650-652.
22. A missense mutation in the extracellular domain of  $\alpha$ ENaC causes Liddle syndrome / M. Salih, I. Gautschi, M.X. van Bemmelen [et al.]. – DOI 10.1681/ASN.2016111163 // J Am Soc Nephrol. – 2017. – Vol. 28 (11). – P. 3291-3299.
23. A novel Frame-Shift mutation in SCNN1B identified in a chinese family characterized by early-onset hypertension / Y.T. Lu, X.C. Liu, Z.M. Zhou [et al.]. – DOI 10.3389/fcvm.2022.896564 // Front Cardiovasc Med. – 2022. – Vol. 9. – P. 896564.
24. A prediction model of essential hypertension based on genetic and environmental risk factors in northern han Chinese / C. Li, D. Sun, J. Liu [et al.]. – DOI 10.7150/ijms.33967 // Int J Med Sci. – 2019. – Vol. 16 (6). – P. 793-799.
25. A prokaryotic voltage-gated sodium channel / D. Ren, B. Navarro, H. Xu [et al.]. – DOI 10.1126/science.1065635 // Science. – 2001. – Vol. 294 (5550). – P. 2372-2375.
26. A selective Na<sub>v</sub>1.1 activator with potential for treatment of Dravet syndrome epilepsy / C.Y. Chow, Y.KY Chin, L. Ma [et al.]. – DOI 10.1016/j.bcp.2020.113991 // Biochem Pharmacol. – 2020. – Vol. 181. – P. 113991.

27. Accessibility of ENaC extracellular domain central core residues / L. Zhang, X. Wang, J. Chen [et al.]. – DOI 10.1016/j.jbc.2022.101860 // J Biol Chem. – 2022. – Vol. 298 (5). – P. 101860.
28. Altered plasma membrane lipid composition in hypertensive neutrophils impacts epithelial sodium channel (ENaC) endocytosis // Y. Ríos-Medina, P. Rico-Chávez, I. Martínez-Vieyra [et al.]. – DOI 10.3390/ijms25094939 // Int J Mol Sci. – 2024. – Vol. 25 (9). – P. 4939.
29. Amiloride-sensitive epithelial Na<sup>+</sup> channel is made of three homologous subunits / C.M. Canessa, L.G. Schild, G. Buell [et al.]. – DOI 10.1038/367463a0 // Buell. Nature. – 1994. – Vol. 367 (6462). – P. 463-467.
30. Analyses of epithelial Na<sup>+</sup> channel variants reveal that an extracellular  $\beta$ -ball domain critically regulates ENaC gating / X. Wang, J. Chen, S. Shi [et al.]. – DOI 10.1074/jbc.RA119.010001 // J Biol Chem. – 2019. – Vol. 294 (45). – P. 16765-16775.
31. Ananchenko A. Multiscale molecular dynamics simulations predict arachidonic acid binding sites in human ASIC1a and ASIC3 transmembrane domains / A. Ananchenko, M. Musgaard. – DOI 10.1085/jgp.202213259 // J Gen Physiol. – 2023. – Vol. 155 (3). – P. e202213259.
32. Anand D. ENaC activation by proteases / D. Anand, E. Hummler, O.J. Rickman. – DOI 10.1111/apha.13811 // Acta Physiol (Oxf). – 2022. – Vol. 235 (1). – P. e13811.
33. Andavan G.S. Voltage-gated sodium channels: mutations, channelopathies and targets / G.S. Andavan, R. Lemmens-Gruber. – DOI 10.2174/092986711794839133 // Curr Med Chem. – 2011. – Vol. 18 (3). – P. 377-97.
34. Angiogenic functions of voltage-gated Na<sup>+</sup> Channels in human endothelial cells: modulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling / P. Andrikopoulos, S.P. Fraser, L. Patterson [et al.]. – DOI 10.1074/jbc.M110.187559 // J Biol Chem. – 2011. – Vol. 286 (19). – P. 16846-16860.



35. Aperia A. Mending Fences: Na,K-ATPase signaling via Ca<sup>2+</sup> in the maintenance of epithelium integrity / A. Aperia, H. Brismar, P. Uhlén. – DOI 10.1016/j.ceca.2020.102210 // Cell Calcium. – 2020. – Vol. 88 – P. 102210.
36. Araos P. The role of neutrophils in hypertension / P. Araos, S. Figueroa, C.A. Amador. – DOI 10.3390/ijms21228536 // Int J Mol Sci. – 2020. – Vol. 21 (22) – P. 8536.
37. Armstrong C.M. Inactivation of the sodium channel. II. Gating current experiments // C.M. Armstrong, F.J. Bezanilla. – DOI 10.1085/jgp.70.5.567 // Gen Physiol. – 1977. – Vol. 70 (5). – P. 567-590.
38. Arnett D.K. Omics of blood pressure and hypertension / D.K. Arnett, S.A. Claas. – DOI 10.1161/CIRCRESAHA.118.311342 // Circ Res. – 2018. – Vol. 122 (10). – P. 1409-1419.
39. Association of a sodium channel alpha subunit promoter variant with blood pressure / N. Iwai, S. Baba, T. Mannami [et al.]. – DOI 10.1681/ASN.V13180 // J Am Soc Nephrol. – 2002. – Vol. 13 (1). – P. 80-85.
40. Association of single nucleotide polymorphism in human SCN7A gene with essential hypertension in Chinese / K.X. Zhang, D.L. Zhu, X. He [et al.]. // Chinese – 2003. – Vol. 20 (6). – P. 463-467.
41. Associations of epithelial sodium channel genes with blood pressure: the GenSalt study / F. Liu, X. Yang, X. Mo [et al.]. – DOI 10.1038/jhh.2014.78 // J Hum Hypertens. – 2015. – Vol. 29. – P. 224-228.
42. Associations of epithelial sodium channel genes with blood pressure changes and hypertension incidence: the GenSalt study / X. Yang, J. He, D. Gu [et al.]. – DOI 10.1093/ajh/hpu060 // Am J Hypertens. – 2014. – Vol. 27 (11). – P. 1370-1376.
43. Automated patch-clamp and induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes: a synergistic approach in the study of Brugada syndrome / D. Melgari, S. Calamaio, A. Frosio [et al.]. – DOI 10.3390/ijms24076687 // Int J Mol Sci. – 2023. – Vol. 24 (7). – P. 6687.

44. Baconguis I. Structural plasticity and dynamic selectivity of acid-sensing ion channel-spider toxin complexes / I. Baconguis, E. Gouaux. – DOI 10.1038/nature11375 // Nature. – 2012. – Vol. 489 (7416). – P. 400-405.
45. Bailey C.S. KCNMA1-linked channelopathy / C.S. Bailey, H.J. Moldenhauer, S.M. Park. – DOI 10.1085/jgp.201912457 // Gen Physiol. – 2019. – Vol. 151 (10). – P. 1173-1189.
46. Baker M.D. Painful and painless mutations of SCN9A and SCN11A voltage-gated sodium channels / M.D. Baker, M.A. Nassar. – DOI 10.1007/s00424-020-02419-9 // Pflugers Arch. – 2020. – Vol. 472 (7). – P. 865-880.
47. Baldin J.P. Epithelial Na<sup>+</sup> channel (ENaC) formed by one or two subunits forms functional channels that respond to shear force / J.P. Baldin, D. Barth, M. Fronius. – DOI 10.3389/fphys.2020.00141 // Front Physiol. – 2020. – Vol. 5 (11). – P. 141.
48. Banday A.A. Kidney dopamine D1-like receptors and angiotensin 1-7 interaction inhibits renal Na<sup>+</sup> transporters / A.A. Banday, A.D. Diaz, M. Lokhandwala. – DOI 10.1152/ajprenal.00135.2019 // Am J Physiol Renal Physiol. – 2019. – Vol. 317 (4) – P. F949-F956.
49. Baron A. Pharmacology of acid-sensing ion channels - Physiological and therapeutical perspectives / A. Baron, E. Lingueglia. – DOI 10.1016/j.neuropharm.2015.01.005 // Neuropharmacology. – 2015. – Vol. 94. – P. 19-35.
50. Beard J.M. Substituted cysteine scanning in D1-S6 of the sodium channel hNav1.4 alters kinetics and structural interactions of slow inactivation / J.M. Beard, P.E. Shockett, J.P. O'Reilly. – DOI 10.1016/j.bbamem.2019.183129 // Biochim Biophys Acta Biomembr. – 2019. – Vol. 70 (5). – P. 183129.
51. Benos D.J. Functional domains within the degenerin/epithelial sodium channel (Deg/ENaC) superfamily of ion channels / D.J. Benos, B.A. Stanton J. – DOI 10.1111/j.1469-7793.1999.00631.x // Physiol. – 1999. – Vol. 520(3). – P. 631-644.
52. Biological concepts in human sodium channel epilepsies and their relevance in clinical practice / A. Brunklaus, J. Du, F. Steckler [et al.]. – DOI 10.1111/epi.16438 // Epilepsia. – 2020. – Vol. 61 (3). – P. 387-399.

53. Biophysical characterization and modelling of SCN1A gain-of-function predicts interneuron hyperexcitability and a predisposition to network instability through homeostatic plasticity / G. Berecki, A. Bryson, T. Polster [et al.]. – DOI 10.1016/j.nbd.2023.106059 // *Neurobiol Dis.* – 2023. – Vol. 179. – P. 106059.
54. Biophysical mechanisms of myocardium sodium channelopathies / A.K. Zaytseva, O.E. Kulichik, A.A. Kostareva, B.S. Zhorov. – DOI 10.1007/s00424-024-02930-3 // *Pflugers Arch.* – 2024. – Vol. 476 (5). – P. 735-753.
55. Blanco-Camarillo C. Corrigendum: low-density neutrophils in healthy individuals display a mature primed phenotype / C. Blanco-Camarillo, O.R. Alemán, C. Rosales. – DOI 10.3389/fimmu.2024.1477117 // *Front Immunol.* – 2021. – Vol. 12 – P. 672520.
56. Blaustein M.P. Sodium ions, calcium ions, blood pressure regulation, and hypertension: a reassessment and a hypothesis / M.P. Blaustein. – DOI 10.1152/ajpcell.1977.232.5.C165 // *Am. J. Physiol.* – 1977. – Vol. 232 – P. C165-C173.
57. Brooks H.L. Kidney physiology: our future is now / H.L. Brooks. – DOI 10.1152/ajprenal.00098.2021 // *Am J Physiol Renal Physiol.* – 2021. – Vol. 320 (6). – P. F1021-F1024.
58. Bustos-Merlo A. Forma monogénica de hipertensión arterial secundaria [Monogenic form of secondary arterial hypertension] / A. Bustos-Merlo, A. Rosales-Castillo, F. Jaén-Águila. – DOI 10.1016/j.hipert.2022.04.002 // *Hipertens Riesgo Vasc. Spanish.* – 2022. – Vol. 39 (3). – P. 135-137.
59. Cancer cell metabolism and antitumour immunity / M. De Martino, J.C. Rathmell, L. Galluzzi, C. Vanpouille-Box. – DOI 10.1038/s41577-024-01026-4 // *Nat Rev Immunol.* – 2024. – Vol. 24 (9). – P. 654-669.
60. Cardiac oxidative signaling and physiological hypertrophy in the Na/K-ATPase  $\alpha 1s/\alpha 2s/s$  mouse model of high affinity for cardiotonic steroids / P.V. Marck, M.T. Pessoa, Y. Xu [et al.]. – DOI 10.3390/ijms22073462 // *Int J Mol Sci.* – 2021. – Vol. 22 (7) – P. 3462.

61. Carmona-Rivera C. Low-density granulocytes in systemic autoimmunity and autoinflammation / C. Carmona-Rivera, M.J. Kaplan. – DOI 10.1111/imr.13161 // *Immunol Rev.* – 2023. – Vol. 314 (1) – P. 313-325.
62. Catterall W.A. Nomenclature and structure-function relationships of voltage-gated sodium channels / W.A. Catterall, A.L. Goldin, S.G. Waxman. – DOI 10.1124/pr.57.4.4 // *Pharmacological Reviews.* – 2005. – Vol. 57 (4). – P. 397-409.
63. Catterall W.A. Structure and pharmacology of voltage-gated sodium and calcium channels / W.A. Catterall, M.J. Lenaeus, El-Din T.M. Gamal. – DOI 10.1146/annurev-pharmtox-010818-021757 // *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* – 2020. – Vol. 60. – P. 133–154.
64. Catterall W.A. The chemical basis for electrical signaling / W.A. Catterall, G. Wisedchaisri, N. Zheng. – DOI 10.1038/nchembio.2353 // *Nat. Chem. Biol.* – 2017. – Vol. 13 (5). – P. 455-463.
65. Catterall W.A. Voltage-gated sodium and calcium channels / W.A. Catterall // *Encyclopedia of Biophysics* / G. Roberts, A. Watts. – DOI 10.1007/978-3-642-35943-9\_357-1. – Springer, 2020. – 2807 p.
66. Catterall W.A. Voltage-gated sodium channels (Na<sub>v</sub>) Introduction / W.A. Catterall, A.L. Goldin, S.G. Waxman // *Guide to Pharmacology*, 2023. – URL: <https://doi.org/10.2218/gtopdb/F82/2023.1>. (date of the application: 02.04.2021).
67. Chahine M. Voltage-gated sodium channels: structure, function and channelopathies / M. Chahine. – DOI 10.1007/978-3-319-90284-5. – Berlin : Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2018. – 450 p. – ISBN 978-3-319-90283-8.
68. Channelopathies that lead to sudden cardiac death: clinical and genetic aspects / J.R. Skinner, A. Winbo, D. Abrams [et al.]. – DOI 10.1016/j.hlc.2018.09.007 // *Heart Lung Circ.* – 2019. – Vol. 28. – P. 22-23.
69. Choi H.C. CD14 glycoprotein expressed in vascular smooth muscle cells / H.C. Choi, K.Y. Lee. – DOI 10.1254/jphs.95.65 // *J Pharmacol Sci.* – 2004. – Vol. 95 (1) – P. 65-70.

70. Choudhury A.R. Ion channels in epithelial dynamics and morphogenesis / A.R. Choudhury, J. Großhans, D. Kong. – DOI 10.3390/cells10092280 // *Cells*. – 2021. – Vol. 10 (9). – P. 2280.
71. Chubinskiy-Nadezhdin V.I. Functional coupling of ion channels in the process of mechano-dependent activation in the membrane of K562 cells / V.I. Chubinskiy-Nadezhdin, Y.A. Negulyaev, E.A. Morachevskaya. – DOI 10.1134/S1990519X19060026 // *Cell Tiss. Biol.* – 2019. – Vol. 13. – P. 470-477.
72. Cinelli A.R. Trafficking of Na-K-ATPase and dopamine receptor molecules induced by changes in intracellular sodium concentration of renal epithelial cells / A.R. Cinelli, R. Efendiev, C.H. Pedemonte. – DOI 10.1152/ajprenal.90317.2008 // *Am J Physiol Renal Physiol.* – 2008. – Vol. 295 (4) – P. F1117-25.
73. Clinical and genetic spectrum of SCN2A gene associated epilepsy and episodic ataxia / J. Guan, K.X. Du, Y. Dong [et al.]. – DOI 10.3760/cma.j.cn112140-20210610-00491 // *Zhonghua Er Ke Za Zhi. Chinese* – 2022. – Vol. 60 (1). – P. 51-55.
74. Clinical characteristics and outcomes of pregnant women with COVID-19 and comparison with control patients: A systematic review and meta-analysis / M. Jafari, A. Pormohammad, S.A. Sheikh Neshin [et al.]. – DOI 10.1002/rmv.2208 // *Rev Med Virol.* – 2021. – Vol. 31 (5). – P. 1-16.
75. Common variants in SCN10A gene associated with Brugada syndrome / Y. Huang, X.M. Chen, H. Barajas-Martinez [et al.]. – DOI 10.1093/hmg/ddab217 // *Hum Mol Genet.* – 2021. – Vol. 31 (2). – P. 157-165.
76. Commonalities and distinctions between two neurodevelopmental disorder subtypes associated with SCN2A and SCN8A variants and literature review / G.D. Mangano, A. Fontana, V. Antona [et al.]. – DOI 10.1002/mgg3.1911 // *Mol Genet Genomic Med.* – 2022. – Vol. 10 (5). – P. e1911.
77. Cox R.H. Voltage-gated sodium channels in human aortic smooth muscle cells / R.H. Cox, Z. Zhou, T.N. Tulenko. – DOI 10.1159/000025600 // *J Vasc Res.* – 1998. – Vol. 35 (5). – P. 310-317.

78. Cryo-EM structure of the ASIC1a-mambalgin-1 complex reveals that the peptide toxin mambalgin-1 inhibits acid-sensing ion channels through an unusual allosteric effect / D. Sun, Y. Yu, X. Xue [et al.]. – DOI 10.1038/s41421-018-0026-1 // *Cell Discov.* – 2018. – Vol. 7. – P. 2-11.
79. Cui Y. Liddle syndrome: clinical and genetic profiles / Y. Cui, A. Tong, J. Jiang. – DOI 10.1111/jch.12949 // *J Clin Hypertens (Greenwich)*. – 2017. – Vol. 19 (5). – P. 524-529.
80. Currie G. The future of "Omics" in hypertension / G. Currie, C. Delles. – DOI 10.1016/j.cjca.2016.11.023 // *Can J Cardiol.* – 2017. – Vol. 33(5). – P. 601-610.
81. Davis H. Post-ganglionic sympathetic neurons can directly sense raised extracellular Na<sup>+</sup> via SCN7a/Na<sub>x</sub> / H. Davis, D.J. Paterson, N. Herring. – DOI 10.3389/fphys.2022.931094 // *Front Physiol.* – 2022. – Vol. 13. – P. 931094.
82. Deciphering in silico the role of mutated Nav1.1 sodium channels in enhancing trigeminal nociception in familial hemiplegic migraine type 3 / A. Suleimanova, M. Talanov, A.MJM van den Maagdenberg, R. Giniatullin. – DOI 10.3389/fncel.2021.644047 // *Front Cell Neurosci.* – 2021. – Vol. 15. – P. 644047.
83. Downregulation of epithelial sodium channel (ENaC) activity in cystic fibrosis cells by epigenetic targeting / G. Blaconà, R. Raso, S. Castellani [et al.]. – DOI 10.1007/s00018-022-04190-9 // *Cell Mol Life Sci.* – 2022. – Vol. 79 (5). – P. 257.
84. Drummond H.A. Degenerin/epithelial Na<sup>+</sup> channel proteins: components of a vascular mechanosensory / H.A. Drummond, D. Gebremedhin, D.R. Harder. – DOI 10.1161/01.HYP.0000144465.56360.ad // *Hypertension.* – 2004. – Vol. 44 (5). – P. 643-648.
85. Drummond H.A. ENaC proteins in vascular smooth muscle mechanotransduction / H.A. Drummond. – DOI 10.1016/S1063-5823(06)59006-4 // *Curr Top Membr.* – 2007. – Vol. 59. – P. 127-153.
86. Dzau V.J. Precision Hypertension / V.J. Dzau, C.P. Hodgkinson. – DOI 10.1161/HYPERTENSIONAHA.123.21710 // *Hypertension.* – 2024. – Vol. 81 (4). – P. 702-708.

87. Eastwood A.L. Insight into DEG/ENaC channel gating from genetics and structure / A.L. Eastwood, M.B. Goodman. – DOI 10.1152/physiol.00006.2012 // *Physiology* (Bethesda). – 2012. – Vol. 27 (5). – P. 282-290.
88. Effective contractile response to voltage-gated Na<sup>+</sup> channels revealed by a channel activator / W.S. Ho, A.J. Davis, P.S. Chadha, I.A. Greenwood. – DOI 10.1152/ajpcell.00164.2012 // *Am J Physiol Cell Physiol*. – 2013. – Vol. 304 (8). – P. 739-477.
89. Emerging RNAi therapies to treat hypertension / P. Daga, G. Singh, T. Menon [et al.]. – DOI 10.1007/s40291-024-00747-5 // *Mol Diagn Ther*. – 2024.
90. ENaC in salt-sensitive hypertension: kidney and beyond / A.L. Pitzer, J.P. Van Beusecum, T.R. Kleyman, A. Kirabo. – DOI 10.1007/s11906-020-01067-9 // *Curr Hypertens Rep*. – 2020. – Vol. 22 (9). – P. 69.
91. Endothelial-vascular smooth muscle cells interactions in atherosclerosis / M. Li, M. Qian, K. Kyler, J. Xu. – DOI 10.3389/fcvm.2018.00151 // *Front Cardiovasc Med*. – 2018. – Vol. 5. – P. 151.
92. Enhanced expression of the epithelial sodium channel in neutrophils from hypertensive patients / E. Reus-Chavarría, I. Martínez-Vieyra, C. Salinas-Nolasco [et al.]. – DOI 10.1016/j.bbamem.2018.11.003 // *Biochim Biophys Acta Biomembr*. – 2019. – Vol. 1861 (2). – P. 387-402.
93. Epilepsy-related voltage-gated sodium channelopathies: a review / L.F. Santos Menezes, E.F. Sabiá Júnior, D.V. Tibery [et al.]. – DOI 10.3389/fphar.2020.01276 // *Front Pharmacol*. – 2020. – Vol. 11. – P. 1276.
94. Epithelial Na<sup>+</sup> channels function as extracellular sensors / O.B. Kashlan, X.P. Wang, S. Sheng, T.R. Kleyman. – DOI 10.1002/cphy.c230015 // *Compr Physiol*. – 2024. – Vol. 14 (2). – P. 1-41.
95. Epithelial Na<sup>+</sup> channel differentially contributes to shear stress-mediated vascular responsiveness in carotid and mesenteric arteries from mice / Z. Ashley, S. Mugloo, F.J. McDonald, M. Fronius. – DOI 10.1152/ajpheart.00506.2017 // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. – 2018. – Vol. 314 (5). – P. H1022-H1032.

96. Epithelial sodium channel alpha subunit ( $\alpha$ ENaC) is associated with inverse salt sensitivity of blood pressure / P. Xu, A.V. Sudarikova, D.V. Ilatovskaya [et al.]. – DOI 10.3390/biomedicines10050981 // *Biomedicines*. – 2022. – Vol. 10 (5). – P. 981.
97. Epithelial sodium channel stiffens the vascular endothelium in vitro and in Liddle mice // P. Jeggle, C. Callies, A. Tarjus [et al.]. – DOI 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.199455 // *Hypertension*. – 2013. – Vol. 61 (5). – P. 10539.
98. Evaluation of the relationship between T663A polymorphism in the alpha-epithelial sodium channel gene and essential hypertension / W. Yang, Z. Zhu, J. Wang [et al.]. – DOI 10.15537/smj.2015.9.11822 // *Saudi Med J*. – 2015. – Vol. 36 (9). – P. 1039-1045.
99. Familial aggregation and heritability of hypertension in Han population in Shanghai China: a case-control study // A.L. Li, X. Fang, Y.Y. Zhang [et al.]. – DOI 10.1186/s40885-019-0122-z // *Clin Hypertens*. – 2019. – P. 1-7.
100. Familial atrial fibrillation mutation M1875T-SCN5A increases early sodium current and dampens the effect of flecainide / M. O'Reilly, L.C. Sommerfeld, C. O'Shea [et al.]. – DOI 10.1093/europace/euac218 // *Europace* – 2023. – Vol. 25 (3). – P. 1152-1161.
101. Focal dorsal hippocampal Nav1.1 knock down alters place cell temporal coordination and spatial behavior / S. Sakkaki, S. Barrière, A.C. Bender [et al.]. – DOI 10.1093/cercor/bhaa101 // *Cereb Cortex*. – 2020. – Vol. 30 (9). – P. 5049-5066.
102. Further delineation of phenotypic spectrum of SCN2A-related disorder / R. Richardson, D. Baralle, C. Bennett [et al.]. – DOI 10.1002/ajmg.a.62595 // *Am J Med Genet A*. – 2022. – Vol. 188 (3). – P. 867-877.
103. Garofalidou T. Molecular pathophysiology of systemic hypertension Chapter 11 / T. Garofalidou, P.B. Munroe // *Clinical molecular medicine* / D. Kumar. – DOI 10.1016/C2015-0-05912-3. – Elsevier Inc : Academic Press, 2020. – P. 169-187.



104. Gautam M. Flow-activated ion channels in vascular endothelium / M. Gautam, A. Gojova, A.I. Barakat. – DOI 10.1385/CBB:46:3:277 // *Cell Biochem Biophys.* – 2006. – Vol. 46 (3). – P. 227-284.
105. Gene therapy for cystic fibrosis: Challenges and prospects / H. Sui, X. Xu, Y. Su Bähr [et al.]. – DOI 10.3389/fphar.2022.1015926 // *Front Pharmacol.* – 2022. – Vol. 13. – P. 1015926.
106. Gene variant effects across sodium channelopathies predict function and guide precision therapy / A. Brunklaus, T. Feng, T. Brünger [et al.]. – DOI 10.1093/brain/awac006 // *Brain.* – 2022. – Vol. 145 (12). – P. 4275-4286.
107. Genetic architecture: the shape of the genetic contribution to human traits and disease / N.J. Timpson, C.M.T. Greenwood, N. Soranzo [et al.]. – DOI 10.1038/nrg.2017.101 // *Nat Rev Genet.* – 2018. – Vol. 19 (2). – P. 110-124.
108. Genomic analyses reveal SCN7A is associated with the prognosis of esophageal squamous cell carcinoma / P. Yuan, W. Rao, Z. Lin [et al.]. – DOI 10.1007/s10388-021-00898-y // *Esophagus.* – 2022. – Vol. 19 (2). – P. 303-315.
109. Genomic and non-genomic regulatory mechanisms of the cardiac sodium channel in cardiac arrhythmias / H. Daimi, E. Lozano-Velasco, A. Aranega, D. Franco. – DOI 10.3390/ijms23031381 // *Int J Mol Sci.* – 2022. – Vol. 23 (3). – P. 1381.
110. Gerhold K.A. Ion channels in endothelial responses to fluid shear stress / K.A. Gerhold, M.A. Schwartz. – DOI 10.1152/physiol.00007.2016 // *Physiology (Bethesda).* – 2016. – Vol. 31 (5). – P. 359-369.
111. Goldin A.L. Resurgence of sodium channel research. *Annual Review of Physiology* / A.L. Goldin. – DOI 10.1146/annurev.physiol.63.1.871 // 2001. – Vol. 63. – P. 871-894.
112. Graelman J. Exploring diallelic genetic markers: the hardyweinberg package / J. Graelman // *Journal of Statistical Software.* – 2015. – Vol. 64 (3) – P. 1-23.
113. Greater natriuretic response to ENaC inhibition in male versus female Sprague-Dawley rats / R.H. Soliman, J.G. Johnston, E.Y. Gohar [et al.]. – DOI

- 10.1152/ajpregu.00060.2019 // *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* – 2020. – Vol. 318 (2). – P. 418-427.
114. Grieshaber-Bouyer R. Neutrophil heterogeneity as therapeutic opportunity in immune-mediated disease / R. Grieshaber-Bouyer, P.A. Nigrovic. – DOI 10.3389/fimmu.2019.00346 // *Front Immunol.* – 2019. – Vol. 10 – P. 346.
115. Московцев Т.М. Endothelium-dependent smooth muscle hyperpolarization: do gap junctions provide a unifying hypothesis? / T.M. Griffith. – DOI 10.1038/sj.bjp.0705698 // *Br J Pharmacol.* – 2004. – Vol. 141 (6). – P. 881-903.
116. Groome J.R. Editorial: Emerging perspectives in sodium channelopathies / J.R. Groome, H.J. Ray, M. Chahine. – DOI 10.3389/fphar.2022.1019004 // *Front Pharmacol.* – 2022. – Vol. 12. – P. 1019004
117. Hamilton K.L. Cleavage: what's up with prostasin and ENaC these days? / K.L. Hamilton. – DOI 10.1152/ajprenal.00522.2014 // *Am J Physiol Renal Physiol.* – 2014. – Vol. 307 (11). – P. F1196-1170.
118. Hansen C.E. Platelet mechanotransduction / C.E. Hansen, Y. Qiu, O.J.T. McCarty. – DOI 10.1146/annurev-bioeng-062117-121215 // *Annu Rev Biomed Eng.* – 2018. – Vol. 20. – P. 253-275.
119. Hanukoglu I. ASIC and ENaC type sodium channels: conformational states and the structures of the ion selectivity filters / I. Hanukoglu. – DOI 10.1111/febs.13840 // *FEBS J.* – 2017. – Vol. 284 (4). – P. 525-545.
120. Helbig K.L. SCN3A-related neurodevelopmental disorder / K.L. Helbig, E.M. Goldberg // *GeneReviews* / editors: M.P. Adam ; Editor-in-Chief J. Feldman [et al.]. – Seattle (WA) : University of Washington, Seattle, 1993-2025. – ISSN 2372-0697. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK570882/> (date of the application: 02.12.2024).
121. Hernandez C.M. Physiology, sodium channels / C.M. Hernandez, J.R. Richards // *StatPearls* / editors: W.B. Ackley ; T.S. Adolphe [et al.]. – Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2024. – URL:

- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545257/> (date of the application: 05.09.2025).
122. Herrero-Cervera A. Neutrophils in chronic inflammatory diseases / A. Herrero-Cervera, O. Soehnlein, E. Kenne. – DOI 10.1038/s41423-021-00832-3 // *Cell Mol Immunol.* – 2022. – Vol. 19 (2) – P. 177-191.
  123. Heterogeneity of neutrophils in arterial hypertension / D. Cerecedo, I. Martínez-Vieyra, E.O. López-Villegas [et al.]. – DOI 10.1016/j.yexcr.2021.112577 // *Exp Cell Res.* – 2021. – Vol. 402 (2). – P. 112577.
  124. High salt recruits aversive taste pathways / Y. Oka, M. Butnaru, L. von Buchholtz [et al.]. – DOI 10.1038/nature11905 // *Nature.* – 2013. – Vol. 494 (7438). – P. 472-475.
  125. Hill A.S. The synaptic action of Degenerin/Epithelial sodium channels / A.S. Hill, Y. Ben-Shahar. – DOI 10.1080/19336950.2018.1495006 // *Channels (Austin).* – 2018. – Vol. 12 (1). – P. 262-275.
  126. Hille B. G protein-coupled mechanisms and nervous signaling / B. Hille. – DOI 10.1016/0896-6273(92)90158-a // *Neuron.* – 1992. – Vol. 9 (2). – P. 187-195.
  127. Hille B. Ionic channels in excitable membranes. Current problems and biophysical approaches / B. Hille. – DOI 10.1016/S0006-3495(78)85489-7 // *Biophys J.* – 1978. – Vol. 22 (2). – P. 283-294.
  128. Hodgkin A.L. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve / A.L. Hodgkin, A.F. Huxley. – DOI 10.1113/jphysiol.1952.sp004764 // *J Physiol.* – 1952. – Vol. 117 (4). – P. 500-544.
  129. How vascular smooth muscle cell phenotype switching contributes to vascular disease / G. Cao, X. Xuan, J. Hu [et al.]. – DOI 10.1186/s12964-022-00993-2 // *Cell Commun Signal.* – 2022. – Vol. 20 (1) – P. 180.
  130. Hypertension: do inflammation and immunity hold the key to solving this epidemic? / M.S. Madhur, F. Eljovich, M.R. Alexander [et al.]. – DOI 10.1161/CIRCRESAHA.121.318052 // *Circ Res.* – 2021. – Vol. 128 (7). – P. 908-933.

131. Hypoxic conditions promote rhythmic contractile oscillations mediated by voltage-gated sodium channels activation in human arteries / A. Virsolvy, A. Fort, L. Erceau [et al.]. – DOI 10.3390/ijms22052570 // *Int J Mol Sci.* – 2021. – Vol. 22 (5). – P. 2570.
132. Incorporation of the  $\delta$ -subunit into the epithelial sodium channel (ENaC) generates protease-resistant ENaCs in *Xenopus laevis* / L. Wichmann, K.S. Vowinkel, A. Perniss [et al.]. – DOI 10.1074/jbc.RA118.002543 // *J Biol Chem.* – 2018. – Vol. 293 (18). – P. 6647-6658.
133. Influence of proteolytic cleavage of ENaC's  $\gamma$  subunit upon  $\text{Na}^+$  and  $\text{K}^+$  handling / E.C. Ray, A. Nickerson, S. Sheng [et al.]. – DOI 10.1152/ajprenal.00027.2024 // *Am J Physiol Renal Physiol.* – 2024. – Vol. 326 (6). – P. F1066-F1077.
134. Insight toward epithelial  $\text{Na}^+$  channel mechanism revealed by the acid-sensing ion channel 1 structure / J.D. Stockand, A. Staruschenko, O. Pochynyuk [et al.]. – DOI 10.1002/iub.89 // *IUBMB Life.* – 2008. – Vol. 60 (9). – P. 620-628.
135. Ion channels and channelopathies in glomeruli / A. Staruschenko, R. Ma, O. Palygin, S.E. Dryer. – DOI 10.1152/physrev.00013.2022 // *Physiol Rev.* – 2023. – Vol. 103 (3). – P. 787-854.
136. Is there a role for genomics in the management of hypertension? / J. Burrello, S. Monticone, F. Buffolo [et al.]. – DOI 10.3390/ijms18061131 // *Int J Mol Sci.* – 2017. – Vol. 18 (6). – P. 1131.
137. Jaminon A. The role of vascular smooth muscle cells in arterial remodeling: focus on calcification-related processes / A. Jaminon, K. Reesink, A. Kroon, L. Schurgers. – DOI 10.3390/ijms20225694 // *Int J Mol Sci.* – 2019. – Vol. 20 (22) – P. 5694.
138. Jasti J. Structure of acid-sensing ion channel 1 at 1.9 Å resolution and low pH / J. Jasti, H. Furukawa, E.B. Gonzales. – DOI 10.1038/nature06163 // *Nature* – 2007. – Vol. 449 (7160). – P. 316-323.
139. Jernigan N.L. Myogenic vasoconstriction in mouse renal interlobar arteries: role of endogenous beta and gamma ENaC / N.L. Jernigan, H.A. Drummond. – DOI

- 10.1152/ajprenal.00177.2006 // *Am J Physiol Renal Physiol.* – 2006. – Vol. 291 (6). – P. F1184-1191.
140. Kellenberger S. International union of basic and clinical DOI 10.1038/nature06163 pharmacology. XCI. structure, function, and pharmacology of acid-sensing ion channels and the epithelial Na<sup>+</sup> channel / S. Kellenberger, L. Schild. – DOI 10.1124/pr.114.009225 // *Pharmacol Rev.* – 2015. – Vol. 67 (1). – P. 1-35.
141. Kellenberger S. Movement of the Na<sup>+</sup> channel inactivation gate during inactivation / S. Kellenberger, T. Scheuer, W.A. Catterall. – DOI 10.1074/jbc.271.48.30971 // *J Biol Chem.* – 1996. – Vol. 271 (48). – P. 30971-30979.
142. Kleyman T.R. Regulating ENaC's gate. *Am J Physiol Cell Physiol* / T.R. Kleyman, D.C. Eaton. – DOI 10.1152/ajpcell.00418.2019 // –2020. – Vol. 318 (1). – P. 150-162.
143. Krauson A.J. The thumb domain mediates acid-sensing ion channel desensitization / A.J. Krauson, M.D. Carattino – DOI 10.1074/jbc.M115.702316J // *Biol Chem.* – 2016. – Vol. 291 (21). – P. 11407-11419.
144. Laccourreye O. French scientific medical journals confronted by developments in medical writing and the transformation of the medical press // O. Laccourreye, H. Maisonneuve. – DOI 10.1016/j.anorl.2019.09.002 // *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis.* – 2019. – Vol. 136 (6). – P. 475-480.
145. Lemmens-Gruber R. The epithelial sodium channel-an underestimated drug target / R. Lemmens-Gruber, S. Tzotzos. – DOI 10.3390/ijms24097775 // *Int J Mol Sci.* – 2023. – Vol. 24 (9). – P. 7775.
146. Levinson S.R. The role of sodium channels in chronic pain / S.R. Levinson, S. Luo, M.A. Henry. – DOI 10.1002/mus.23314 // *Muscle Nerve.* – 2012. – Vol. 46 (2). – P. 155-165.
147. Li T. Voltage-gated sodium channels in drug discovery / T. Li, J. Chen // *Ion channels in health and sickness* / K.F. Shad. – London, 2018. – P. 14-44.

148. Liddle Syndrome: Review of the literature and description of a new case / M. Tetti, S. Monticone, J. Burrello [et al.]. – DOI [10.3390/ijms19030812](https://doi.org/10.3390/ijms19030812) // *Int J Mol Sci.* – 2018. – Vol. 19 (3). – P. 812.
149. Lip S. Genomics of blood pressure and hypertension: extending the mosaic theory toward stratification / S. Lip, S. Padmanabhan. – DOI [10.1016/j.cjca.2020.03.001](https://doi.org/10.1016/j.cjca.2020.03.001) // *Can J Cardiol.* – 2020. – Vol. 36 (5). – P. 694-705.
150. Lipkind G.M. Voltage-gated Na channel selectivity: the role of the conserved domain III lysine residue / G.M. Lipkind, H.A. Fozzard. – DOI [10.1085/jgp.200809991](https://doi.org/10.1085/jgp.200809991) // *J Gen Physiol.* – 2008. – Vol. 131 (6). – P. 523-529.
151. Liu S. Vascular smooth muscle cells mechanosensitive regulators and vascular remodeling / S. Liu, Z. Lin. – DOI [10.1159/000519845](https://doi.org/10.1159/000519845) // *J Vasc Res.* – 2022. – Vol. 59 (2). – P. 90-113.
152. Lysine and the Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> selectivity in mammalian voltage-gated sodium channels / Y. Li, H. Liu, M. Xia [et al.]. – DOI [10.1371/journal.pone.0162413](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162413) // *PLOS ONE.* – 2016. – Vol. 11 (9). – P. e0162413.
153. Machine learning approaches for predicting hypertension and its associated factors using population-level data from three south asian countries / S.MS. Islam, A. Talukder, M.A. Awal [et al.]. – DOI [10.3389/fcvm.2022.839379](https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.839379) // *Front Cardiovasc Med.* 2022. – Vol. 9. – P. 839379.
154. Mall M.A. ENaC inhibition in cystic fibrosis: potential role in the new era of CFTR modulator therapies / M.A. Mall. – DOI [10.1183/13993003.00946-2020](https://doi.org/10.1183/13993003.00946-2020) // *Eur Respir J.* – 2020. – Vol. 56 (6). – P. 2000946.
155. Mano I. DEG/ENaC channels: a touchy superfamily that watches its salt / I. Mano, M. Driscoll. – DOI [10.1002/\(SICI\)1521-1878\(199907\)21:7<568::AID-BIES5>3.0.CO;2-L](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-1878(199907)21:7<568::AID-BIES5>3.0.CO;2-L) // *Bioessays.* – 1999. – Vol. 21 (7). – P. 568-578.
156. Marunaka Y. The role of ion-transporting proteins in human disease / Y. Marunaka. – DOI [10.3390/ijms25031726](https://doi.org/10.3390/ijms25031726) // *Int J Mol Sci.* – 2024. – Vol. 25 (3). – P. 1726.

157. Mass cytometry reveals the imbalanced immune state in the peripheral blood of patients with essential hypertension / R. Yang, Y. He, H. Zhang [et al.]. – DOI 10.1155/2023/9915178 // *Cardiovasc Ther.* – 2023. – P. 9915178.
158. Mechanical strain-mediated tenogenic differentiation of mesenchymal stromal cells is regulated through epithelial sodium channels / H.Y. Nam, M.R. Murali, R.E. Ahmad [et al.]. – DOI 10.1155/2020/5385960 // *Stem Cells Int.* – 2020. – Vol. 2020. – P. 5385960.
159. Meisler M.H. Sodium channelopathies in neurodevelopmental disorders / M.H. Meisler, S.F. Hill, W. Yu. – DOI 10.1038/s41583-020-00418-4 // *Nat Rev Neurosci.* – 2021. – Vol. 22 (3). – P. 152-166.
160. Microarray profiling of circular RNA identifies hsa\_circ\_0126991 as a potential risk factor for essential hypertension // L. Liu, T. Gu, X. Bao [et al.]. – DOI 10.1159/000500063 // *Cytogenet Genome Res.* – 2019. – Vol. 157 (4). – P. 203-212.
161. Modulation of fast sodium current in airway smooth muscle cells by exchange protein directly activated by cAMP / R.M. Matthews, E. Bradley, M.A. Hollywood [et al.]. – DOI 10.1152/ajpcell.00417.2023 // *Am J Physiol Cell Physiol.* – 2024. – Vol. 326 (1). – P. C1-C9.
162. Molecular basis of the mammalian pressure-sensitive ion channels: focus on vascular mechanotransduction / J.H. Folgering, R. Sharif-Naeini, A. Dedman [et al.]. – DOI 10.1016/j.pbiomolbio.2008.02.006 // *Prog Biophys Mol Biol.* – 2008. – Vol. 97 (2-3). – P. 180-195.
163. Mononuclear leukocytes invade rabbit arterial intima during thickening formation via CD18-and VLA-4-dependent mechanisms and stimulate smooth muscle migration / D. Kling, J. Fingerle, J.M. Harlan [et al.]. – DOI 10.1161/01.res.77.6.1121 // *Circ Res.* – 1995. – Vol. 77 (6) – P. 1121-1128.
164. Morris C.E. Nav channel mechanosensitivity: activation and inactivation accelerate reversibly with stretch / C.E. Morris, P.F. Juranka. – DOI 10.1529/biophysj.106.101246 // *Biophys J.* – 2007. – Vol. 93 (3). – P. 822-833.

165. Multifocal ectopic Purkinje-related premature contractions: a new SCN5A-related cardiac channelopathy / G. Laurent, S. Saal, M.Y. Amarouch [et al.]. – DOI 10.1016/j.jacc.2012.02.052 // J Am Coll Cardiol. – 2012. – Vol. 60 (2). – P. 144-156.
166. Musto E. Recent advances in treatment of epilepsy-related sodium channelopathies / E. Musto, E. Gardella, R.S. Møller. – DOI 10.1016/j.ejpn.2019.12.009 // Eur J Paediatr Neurol. – 2020. – Vol. 24. – P. 123-128.
167. Mutchler S.M. Epithelial sodium channel and salt-sensitive hypertension / S.M. Mutchler, A. Kirabo, T.R. Kleyman. – DOI 10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.14481 // Hypertension. – 2021. – Vol. 77 (3). – P. 759-767.
168. Myosin 1f is specifically required for neutrophil migration in 3D environments during acute inflammation / M. Salvermoser, R. Pick, L.T. Weckbach [et al.]. – DOI 10.1182/blood-2017-10-811851 // Blood. – 2018. – Vol. 131 (17) – P. 1887-1898.
169. Myristoylated alanine-rich C kinase substrate-like protein-1 regulates epithelial sodium channel activity in renal distal convoluted tubule cells / C. Song, Q. Yue, A. Moseley [et al.]. – DOI 10.1152/ajpcell.00218.2020 // Am J Physiol Cell Physiol. – 2020. – Vol. 319 (3). – P. C589-C604.
170. Na(x) channel involved in CNS sodium-level sensing / T.Y. Hiyama, E. Watanabe, K. Ono [et al.]. – DOI 10.1038/nn0602-856 // Nat Neurosci. – 2002. – Vol. 5 (6). – P. 511-512.
171. Na<sup>+</sup> increases in body fluids sensed by central Na<sub>x</sub> induce sympathetically mediated blood pressure elevations via H<sup>+</sup>-dependent activation of ASIC1a / K. Nomura, T.Y. Hiyama, H. Sakuta [et al.]. – DOI 10.1016/j.neuron.2018.11.017 // Neuron. – 2019. – Vol. 101 (1). – P. 60-75.
172. Na<sup>+</sup> inhibits the epithelial Na<sup>+</sup> channel by binding to a site in an extracellular acidic cleft / O.B. Kashlan, B.M. Blobner, Z.Zuzek [et al.]. – DOI 10.1074/jbc.M114.606152 // J Biol Chem. – 2015. – Vol. 290 (1). – P. 568-576.



173. Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase: more than an electrogenic pump / R.G. Contreras, A. Torres-Carrillo, C. Flores-Maldonado [et al.]. – DOI 10.3390/ijms25116122 // *Int J Mol Sci.* – 2024. – Vol. 25 (11) – P. 6122.
174. Nam H.Y. Adipose and bone marrow derived-mesenchymal stromal cells express similar tenogenic expression levels when subjected to mechanical uniaxial stretching in vitro / H.Y. Nam, M.R.D. Yusof, T. Kamarul. – DOI 10.1155/2023/4907230 // *Stem Cells Int.* – 2023. – Vol. 2023. – e4907230.
175. Neurodevelopmental disorder associated with de novo SCN3A pathogenic variants: two new cases and review of the literature / L.M. Inuzuka, L.I. Macedo-Souza, B. Della-Ripa [et al.]. – DOI 10.1016/j.braindev.2019.09.004 // *Brain Dev.* – 2019. – Vol. 42 (2). – P. 211-216.
176. Neutrophils: many ways to die / E. Pérez-Figueroa, P. Álvarez-Carrasco, E. Ortega [et al.]. – DOI 10.3389/fimmu.2021.631821 // *Front Immunol.* – 2021. – Vol. 12. – P. 631821.
177. New generation ENaC inhibitors detach cystic fibrosis airway mucus bundles via sodium/hydrogen exchanger inhibition / M. Giorgetti, N. Klymiuk, A. Bähr [et al.]. – DOI 10.1016/j.ejphar.2021.174123 // *Eur J Pharmacol.* – 2021. – Vol. 904. – P. 174123.
178. Nociceptor-specific gene deletion reveals a major role for Nav1.7 (PN1) in acute and inflammatory pain / M.A Nassar, L.C. Stirling, G. Forlani [et al.]. – DOI 10.1073/pnas.0404915101 // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2004. – Vol. 101 (34). – P. 12706-12711.
179. Non-dystrophic myotonias: clinical and mutation spectrum of 70 German patients / N. Vereb, F. Montagnese, D. Gläser [et al.]. – DOI 10.1007/s00415-020-10328-1 // *J Neurol.* – 2021. – Vol. 268 (5). – P. 1708-1720.
180. Noreng S. Molecular principles of assembly, activation, and inhibition in epithelial sodium channel / S. Noreng, R. Posert, A. Bharadwaj. – DOI 10.7554/eLife.59038 // *Elife.* – 2020. – Vol. 9. – P. e59038.
181. Noskov S.Yu. Current topics in membranes / S.Yu. Noskov, R.J.French // *Understanding sodium channel function and modulation using atomistic*

- simulations of bacterial channel structures / C. Boiteux, T.W. Allen. – DOI: 10.1016/bs.ctm.2016.07.002. – Elsevier Inc. – 2016. – P. 145- –ISBN: 9780128092538
182. Padmanabhan S. Recent findings in the genetics of blood pressure: how to apply in practice or is a moonshot required? / S. Padmanabhan, A. Aman, A.F. Dominiczak. – DOI 10.1007/s11906-018-0863-1 // *Curr Hypertens Rep.* – 2018. – Vol. 20 (6). – P. 54.
183. Page I.H. The mosaic theory of arterial hypertension--its interpretation / I.H. Page. – DOI 10.1353/pbm.1967.0031 // *Perspect Biol Med.* – 1967. – Vol. 10 (3) – P. 325-33.
184. Paudel P. The  $\delta$  subunit of epithelial sodium channel in humans-a potential player in vascular physiology / P. Paudel, F.J. McDonald, M. Fronius. – DOI 10.1152/ajpheart.00800.2020 // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2021. – Vol. 320 (2). – P. H487-H493.
185. Payandeh J. Progress in understanding slow inactivation speeds up / J. Payandeh. – DOI 10.1085/jgp.201812149 // *J Gen Physiol.* – 2018. – Vol. 150 (9). – P. 1235-1238.
186. Pedersen S. Psychological factors and incident heart disease. Chapter 59.2 / S. Pedersen // *Cardiovascular Medicine* / S. Taddei, R.M. Bruno, S. Masi [et al.]. – DOI 10.1093/med/9780198784906.003.0788. – Oxford : European Society of Cardiology, 2020. – 3408 p. – ISBN 9780191827143.
187. Peripheral localization of the epithelial sodium channel in the apical membrane of bronchial epithelial cells // I. Musante, P. Scudieri, A. Venturini [et al.]. – DOI 10.1113/EP087590 // *Exp Physiol.* – 2019. – Vol. 104 (6). – P. 866-875.
188. Postmortem genetic testing for cardiac ion channelopathies in stillbirths / P.B. Munroe, S. Addison, D.J. Abrams [et al.]. – DOI 10.1161/CIRCGEN.117.001817 // *Circ Genom Precis Med.* – 2018. – Vol. 11 (1). – P. e001817.

189. Prevalence rate of hypertension in adults aged 30-79 // Our World in Data : [webcite]. – URL: <https://ourworldindata.org/grapher/hypertension-adults-30-79> (date of the application: 29.03.2025).
190. Primary erythromelalgia: a review / Z. Tang, Z. Chen, B. Tang [et al.]. – DOI 10.1186/s13023-015-0347-1 // *Orphanet J Rare Dis.* – 2015. – Vol. 10. – P. 127.
191. Rare variants in genes encoding subunits of the epithelial Na<sup>+</sup> channel are associated with blood pressure and kidney function / B.M. Blobner, A. Kirabo, O.B. Kashlan [et al.]. – DOI 10.1161/HYPERTENSIONAHA.121.18513 // *Hypertension.* – 2022. – Vol. 79 (11). – P. 2573-2582.
192. Rauh R. Effects of syntaxins 2, 3, and 4 on rat and human epithelial sodium channel (ENaC) in *Xenopus laevis* oocytes / R. Rauh, F. Frost, C. Korbmacher. – DOI 10.1007/s00424-020-02365-6 // *Pflugers Arch.* – 2020. – Vol. 472 (4). – P. 461-471.
193. Recommendations for reporting on emerging optical imaging agents to promote clinical approval / W.S. Tummers, J.M. Warram, N.S. van den Berg [et al.]. – DOI 10.7150/thno.27384 // *Theranostics.* – 2018. – Vol. 8 (19). – P. 5336-5347.
194. Resting-state structure and gating mechanism of a voltage-gated sodium channel / G. Wisedchaisri, L. Tonggu, E. McCord [et al.]. – DOI 10.1016/j.cell.2019.06.031 // *Cell.* – 2019. – Vol. 178(4). – P. 993-1003.e12.
195. Rodriguez S. Hardy-weinberg equilibrium testing of biological ascertainment for mendelian randomization studies / S. Rodriguez, T.R. Gaunt, N.M. Day. – DOI 10.1093/aje/kwn359 // *American Journal of Epidemiology Advance Access.* – 2009. – Vol. 169 (4). – P.505-514.
196. Role of epithelial Na<sup>+</sup> channels in endothelial function / D. Guo, S. Liang, S. Wang [et al.]. – DOI 10.1242/jcs.168831 // *J Cell Sci.* – 2016. – Vol. 129 (2). – P. 290-729.
197. Role of epithelial sodium channel-related inflammation in human diseases / Y. Chen, X. Yu, Z. Yan [et al.]. – DOI 10.3389/fimmu.2023.1178410 // *Front Immunol.* – 2023. – Vol. 14 – P. 1178410.

198. Role of growth arrest and DNA damage-inducible, beta in alcohol-drinking behaviors / D.P. Gavin, H. Kusumo, H. Zhang [et al.]. – DOI 10.1111/acer.12965 // *Alcohol Clin Exp Res.* – 2016. – Vol. 40 (2). – P. 263–272.
199. Role of the voltage sensor module in Nav domain IV on fast inactivation in sodium channelopathies: The implication of closed-state inactivation / T. Nakajima, Y. Kaneko, T. Dharmawan [et al.]. – DOI 10.1080/19336950.2019.1649521.2019 // *Channels (Austin).* – 2019. – Vol. 13 (1). – P. 331-343.
200. Ruben C.P. Voltage gated sodium channels / C.P. Ruben. – DOI 10.1007/978-3-642-41588-3 // Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2014. – 295 p. – ISBN 978-3-642-41587-6.
201. Scheen A.J. Regards croisés sur la pression artérielle en position assise // A.J. Scheen, M. Marchand, J.C. Philips // *Revue Médicale de Liège.* – 2021. – Vol. 76 (4). – P. 221-223.
202. Scheffer I.E. SCN1A-related phenotypes: Epilepsy and beyond / I.E. Scheffer, R. Nabbout. – DOI 10.1111/epi.16386 // *Epilepsia.* – 2019. – Vol. 60 (3). – P. S17-S24.
203. Schoner W. Endogenous and exogenous cardiac glycosides and their mechanisms of action / W. Schoner, G. Scheiner-Bobis. – DOI 10.2165/00129784-200707030-00004 // *Am. J.* – 2007. – Vol. 7 – P. 173–189.
204. SCN2A channelopathies in the autism spectrum of neuropsychiatric disorders: a role for pluripotent stem cells? / K.A. Kruth, T.M. Grisolano, C.A. Ahern [et al.]. – DOI 10.1186/s13229-020-00330-9 // *Molecular Autism.* – 2020. – Vol. 11 (1). – P. 23.
205. Selective chemical activation of piezo1 in leukemia cell membrane: single channel analysis / V. Vasileva, E. Morachevskaya, A. Sudarikova [et al.]. – DOI 10.3390/ijms22157839 // *Int J Mol Sci.* – 2021. – Vol. 22 (15). – P. 7839.
206. Seman B.G. The Enigma of low-density granulocytes in humans: complexities in the characterization and function of LDGs during disease / B.G. Seman, C.M. Robinson. – DOI 10.3390/pathogens10091091 // *Pathogens.* – 2021. – Vol. 10 (9) – P. 1091.

207. Sequence CLCN1 and SCN4A genes in patients with nondystrophic myotonia in Chinese people / Y.X. Meng, M. Yu, C. Liu [et al.]. – DOI 10.1097/MD.00000000000029591 // *Medicine (Baltimore)*. – 2022. – Vol. 101 (29). – P. 29591.
208. Sexual dimorphic role of CD14 (cluster of differentiation 14) in salt-sensitive hypertension and renal injury / D.J. Fehrenbach, J.M. Abais-Battad, J.H. Dasinger [et al.]. – DOI 10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.14928 // *Hypertension*. – 2021. – Vol. 77 (1) – P. 228-240.
209. Sherwood T.W. Structure and activity of the acid-sensing ion channels / T.W. Sherwood, E.N. Frey, C.C. Askwith. – DOI 10.1152/ajpcell.00188.2012 // *Am J Physiol Cell Physiol*. – 2012. – Vol. 303 (7). – P. C699-710.
210. Sodium intake and disease: another relationship to consider / C. Baumer-Harrison, J.M. Breza, C. Sumners [et al.]. – DOI 10.3390/nu15030535 // *Nutrients*. – 2023. – Vol. 15 (3). – P. 535.
211. Srivastava A.K. Heritability estimation approaches utilizing genome-wide data / A.K. Srivastava, S.M. Williams, G. Zhang. – DOI 10.1002/cpz1.734 // *Curr Protoc*. – 2023. – Vol. 3 (4). – P. e734.
212. Structural dynamics of Na<sup>+</sup> and Ca<sup>2+</sup> interactions with full-size mammalian NCX / M. Giladi, L. Fojtík T. Strauss [et al.]. – DOI 10.1038/s42003-024-06159-9 // *Commun Biol*. – 2024. – Vol. 7 – P. 463.
213. Structure of the cardiac sodium channel / D. Jiang, H. Shi, L. Tonggu [et al.]. – DOI 10.1016/j.cell.2019.11.041 // *Cell*. – 2020. – Vol. 180 (1). – P. 122-134.
214. Structure of the human epithelial sodium channel by cryo-electron microscopy / S. Noreng, A. Bharadwaj, R. Posert [et al.]. – DOI 10.7554/eLife.39340 // *Elife*. – 2018. – Vol. 7. – P. e39340.
215. Structure of the Nav1.4-β1 complex from electric eel / Z. Yan, Q. Zhou, L.W. Ahern [et al.]. – DOI 10.1016/j.cell.2017.06.039 // *Cell*. – 2017. – Vol. 170 (3). – P. 470-482.e11.

216. Survey and evaluation of hypertension machine learning research / C. du Toit, T.Q.B. Tran, N. Deo [et al.]. – DOI 10.1161/JAHA.122.027896 // J Am Heart Assoc. – 2023. – Vol. 12 (9). – P. e027896.
217. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes / A. Waterhouse, M. Bertoni, S. Bienert [et al.]. – DOI 10.1093/nar/gky427 // Nucleic Acids Res. – 2018. – Vol. 46 (W1). – P. 296-303.
218. Targeting smooth muscle cell phenotypic switching in vascular disease / R. Chakraborty, P. Chatterjee, J.M. Dave [et al.]. – DOI 10.1016/j.jvssci.2021.04.001 // JVS Vasc Sci. – 2021. – Vol. 15 (2) – P. 79-94.
219. Taruno A. Molecular and cellular mechanisms of salt taste / A. Taruno, M.D. Gordon. – DOI 10.1146/annurev-physiol-031522-075853 // Annu Rev Physiol. – 2023. – Vol. 85 – P. 25-45.
220. Teixeira S.K. Genetics of resistant hypertension: the missing heritability and opportunities / S.K. Teixeira, A.C. Pereira, J.E. Krieger. – DOI 10.1007/s11906-018-0852-4 // Curr Hypertens Rep. – 2018. – Vol. 20 (6). – P. 48.
221. Tetrodotoxin decreases the contractility of mesenteric arteries, revealing the contribution of voltage-gated Na<sup>+</sup> channels in vascular tone regulation / J. Park, C. Proux, W. Ehanno [et al.]. – DOI 10.3390/md21030196 // Mar Drugs. – 2023. – Vol. 21 (3). – P. 196.
222. The absence of endothelial sodium channel  $\alpha$  ( $\alpha$ ENaC) reduces renal ischemia/reperfusion injury / A. Tarjus, C. González-Rivas, I. Amador-Martínez [et al.]. – DOI 10.3390/ijms20133132 // Int J Mol Sci. – 2019. – Vol. 20 (13). – P. 3132.
223. The actin cytoskeleton regulates exocytosis of all neutrophil granule subsets / N.R. Jog, M.J. Rane, G. Lominadze [et al.]. – DOI 10.1152/ajpcell.00384.2006 // Am J Physiol Cell Physiol. – 2007. – Vol. 292 (5) – P. C1690-700.
224. The cells and peripheral representation of sodium taste in mice / J. Chandrashekar, C. Kuhn, Y. Oka [et al.]. – DOI 10.1038/nature08783 // Nature. – 2010. – Vol. 464 (7286). – P. 297-301.

225. The crossroad of ion channels and calmodulin in disease / J. Urrutia, A. Aguado, A. Muguruza-Montero [et al.]. – DOI 10.3390/ijms20020400 // *Int J Mol Sci.* – 2019. – Vol. 20 (2). – P. 400.
226. The deletion of endothelial sodium channel  $\alpha$  ( $\alpha$ ENaC) impairs endothelium-dependent vasodilation and endothelial barrier integrity in endotoxemia in vivo / M. Sternak, A. Bar, M.G. Adamski [et al.]. – DOI 10.3389/fphar.2018.00178 // *Front Pharmacol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 178.
227. The diverse functions of the DEG/ENaC family: linking genetic and physiological insights / E. Kaulich, L.J. Grundy, W.R. Schafer [et al.]. – DOI 10.1113/JP283335 // *J Physiol.* – 2023. – Vol. 601 (9). – P. 1521-1542.
228. The emerging role of voltage-gated sodium channels in tumor biology / W. Mao, J. Zhang, H. Körner [et al.]. – DOI 10.3389/fonc.2019.00124 // *Front Oncol.* – 2019. – Vol. 9. – P. 124.
229. The endothelial  $\alpha$ ENaC contributes to vascular endothelial function in vivo / A. Tarjus, M. Maase, P. Jeggle [et al.]. – DOI 10.1371/journal.pone.0185319 // *PLoS One.* – 2017. – Vol. 12 (9). – P. e0185319.
230. The epithelial sodium channel in inflammation and blood pressure modulation / T. Ahmad, L.A. Ertuglu, S.K. Masenga [et al.]. – DOI 10.3389/fcvm.2023.1130148 // *Front Cardiovasc Med.* – 2023. – Vol. 10. – P. 1130148.
231. The function and regulation of acid-sensing ion channels (ASICs) and the epithelial Na(+) channel (ENaC): IUPHAR Review 19 / E. Boscardin, O. Alijevic, E. Hummler [et al.]. – DOI 10.1111/bph.13533 // *Br J Pharmacol.* – 2016. – Vol. 173 (18). – P. 2671-2701.
232. The human SCN9A<sup>R185H</sup> point mutation induces pain hypersensitivity and spontaneous pain in mice / Y. Xue, M. Kremer, MDM. Muniz Moreno [et al.]. – DOI 10.3389/fnmol.2022.913990 // *Front Mol Neurosci.* – 2022. – Vol. 15. – P. 913990.

233. The N terminus of  $\alpha$ -ENaC mediates ENaC cleavage and activation by furin / P. Kota, M. Gentzsch, Y.L. Dang [et al.]. – DOI 10.1085/jgp.201711860J // *Gen Physiol.* – 2018. – Vol. 150 (8). – P. 1179-1187.
234. The Na/K-ATPase signaling: from specific ligands to general reactive oxygen species / R.D. Pratt, C.R. Brickman, C.L. Cottrill [et al.]. – DOI 10.3390/ijms19092600 // *Int J Mol Sci.* – 2018. – Vol. 19 (9) – P. 2600.
235. The Na<sub>x</sub> (SCN7A) channel: an atypical regulator of tissue homeostasis and disease / D. Dolivo, A. Rodrigues, L. Sun [et al.]. – DOI 10.1007/s00018-021-03854-2 // *Cell Mol Life Sci.* – 2021. – Vol. 78 (14). – P. 5469-5488.
236. The neutrophil-to-lymphocyte ratio is associated with all-cause and cardiovascular mortality among individuals with hypertension / X. Zhang, R. Wei, X. Wang [et al.]. – DOI 10.1186/s12933-024-02191-5 // *Cardiovasc Diabetol.* – 2024. – Vol. 23 (1) – P. 117.
237. The outer vestibule of the Na<sup>+</sup> channel–toxin receptor and modulator of permeation as well as gating / R.Cervenka, T. Zarrabi, P. Lukacs [et al.]. – DOI 10.3390/md8041373 // *Mar. Drugs.* – 2010. – Vol. 8 (4). – P. 1373-1393.
238. The resource for approved human gene nomenclature [Gene Nomenclature Committee]. – URL: <https://www.genenames.org/tools/search/#!/?query=ENaC> (date of the application: 15.11.2024).
239. The role of voltage-gated sodium channels in pain signaling / D.L. Bennett, A.J. Clark, J. Huang [et al.]. – DOI 10.1152/physrev.00052.2017 // *Physiol Rev.* – 2019. – Vol. 99 (2). – P. 1079-1151.
240. The sodium channel Na<sub>x</sub>: Possible player in excitation-contraction coupling / E. Bogdanovic, F. Potet, W. Marszalec [et al.]. – DOI 10.1002/iub.2247 // *IUBMB Life.* – 2020. – Vol. 72 (4). – P. 601-606.
241. Tikhonov D.B. Conservation and variability of the pore-lining helices in P-loop channels / D.B. Tikhonov, B.C. Zhorov. – DOI 10.1080/19336950.2017.1395536 // *Channels.* – 2017. – Vol. 11 (6). – P. 660-672.



242. Touyz R. Vascular physiology. Chapter 3.16 / R. Touyz, C. Delles / Textbook of Vascular Medicine / D. Graham. – DOI 10.1007/978-3-030-16481-2\_2 // Springer, Cham. – 2019. – ISBN 978-3-030-16481-2.
243. Transmembrane serine protease 2 (TMPRSS2) proteolytically activates the epithelial sodium channel (ENaC) by cleaving the channel's  $\gamma$ -subunit / F. Sure, M. Bertog, S. Afonso [et al.]. – DOI 10.1016/j.jbc.2022.102004 // J Biol Chem. – 2022. – Vol. 298 (6). – P. 102004.
244. Tsuda K. Red blood cell abnormalities and hypertension / K. Tsuda. – DOI 10.1038/s41440-019-0353-0 // Hypertens Res. – 2020. – Vol. 43 – P. 72-73.
245. Ulyanova A.V. Voltage-dependent inward currents in smooth muscle cells of skeletal muscle arterioles / A.V. Ulyanova, R.E. Shirokov. – DOI 10.1371/journal.pone.0203342 // PLoS One. – 2018. – Vol. 13 (4). – P. e0194980.
246. Vaithia A. Probing conformational changes during activation of ASIC1a by an optical tweezer and by methanethiosulfonate-based cross-linkers / A. Vaithia, S. Kellenberger. – DOI 10.1371/journal.pone.0270762 // PLoS One. – 2022. – Vol. 17 (7). – P. e0270762.
247. Vallée C. Ion selectivity in the ENaC/DEG family: a systematic review with supporting analysis / C. Vallée, B. Howlin, R. Lewis. – DOI 10.3390/ijms222010998 // Int J Mol Sci. – 2021. – Vol. 22 (20). – P. 10998.
248. Vascular mechanotransduction / M.J. Davis, S. Earley, Y.S. Li [et al.]. – DOI 10.1152/physrev.00053.2021 // Physiol Rev. – 2023. – Vol. 103 (2). – P. 1247-1421.
249. Weber F. Hyperkalemic Periodic Paralysis / M.P. Adam, J. Feldman, G.M. Mirzaa [et al.]. // GeneReviews / editors: M.P. Adam ; Editor-in-Chief J. Feldman [et al.]. – Seattle (WA) : University of Washington, Seattle, 1993-2025. – ISSN 2372-0697. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1496/> (date of the application: 15.03.2025).
250. Wichmann L. Evolution of epithelial sodium channels: current concepts and hypotheses / L. Wichmann, M. Althaus. – DOI 10.1152/ajpregu.00144.2020 // Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. – 2020. – Vol. 319 (4). – P. 387-400.

251. Wood J.N. Sodium channels / J.N. Wood, F. Iseppon. – DOI 10.1177/2398212818810684 // Brain Neurosci Adv. – 2018. – Vol. 2. – P. 2398212818810684.
252. World Health Organization. Health and aging. – URL: [https://www.nia.nih.gov/sites/default/files/2017-06/global\\_health\\_aging.pdf](https://www.nia.nih.gov/sites/default/files/2017-06/global_health_aging.pdf) (дата обращения: 04. 06.2019).
253. Wu J. The function and regulation of piezo ion channels / J. Wu, A.H. Lewis, J. Grandl. – DOI 10.1016/j.tibs.2016.09.004 // Trends Biochem Sci. – 2017. – Vol. 42 (1). – P. 57-71.
254. Xie Z. Na(+)/K(+)-ATPase as a signal transducer / Z. Xie, A. Askari. – DOI 10.1046/j.1432-1033.2002.02910.x // Eur J Biochem. – 2002. – Vol. 269 (10) – P. 2434-2439.
255. X-ray structure of acid-sensing ion channel 1-snake toxin complex reveals open state of a Na(+)-selective channel / I. Bacongus, C.J. Bohlen, A. Goehring [et al.]. – DOI 10.1016/j.cell.2014.01.011 // Cell. – 2014. – Vol. 156 (4). – P. 717-29.
256. Yan C. An analysis of reentrant loops / C. Yan, J. Luo. – DOI 10.1007/s10930-010-9259-z // Protein J. – 2010. – Vol. 29 (5). – P. 350-354.