



На правах рукописи

Покоева Зоя Андреевна

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

3.3.3. Патологическая физиология
(медицинские науки)

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Чита - 2025

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Заслуженный работник высшей школы РФ,
доктор медицинских наук, профессор

Витковский Юрий Антонович

Официальные оппоненты:

Савченко Андрей Анатольевич – доктор медицинских наук, профессор.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» – обособленное подразделение «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, заведующий лабораторией клеточно-молекулярной физиологии и патологии, г. Красноярск

Шилов Сергей Николаевич – доктор медицинских наук, доцент.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры патологической физиологии и клинической патофизиологии, г. Новосибирск

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Иркутск

Защита состоится «__» июля 2025 года в __⁰⁰ на заседании диссертационного совета 21.2.077.01 при ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ (672000, г. Чита, ул. Горького, 39а).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ (672000, г. Чита, ул. Горького 39а; <https://chitgma.ru>).

Автореферат разослан «__» _____ 2025 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета,

д.м.н., доцент



Мироманова Наталья Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность 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 [Lemmens-Gruber R., 2023]. Генетически детерминированная дисфункция белковых субъединиц ионных натриевых каналов вызывает многочисленные заболевания, называемые каналопатиями [Catterall W.A., 2020; Meisler M.H., 2021; Brunklaus A., 2022; Groome J.R., 2022; Staruschenko A., 2023]. Под термином «натриевые каналопатии» в данном исследовании понимается изменение функционирования каналов, ассоциированное с генетическими вариантами натриевых каналов.

Изменения ионных механизмов биоэлектрических процессов сосудов лежат в основе формирования устойчивого повышения артериального давления (АД) и принимают участие в мышечном сокращении, внутриклеточной сигнализации, высвобождении медиаторов, регуляторных молекул общего и местного назначения [Marunaka Y., 2024]. 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 [Daga P., 2024], в связи с тем, что целевой уровень контроля АД остается низким: менее одной пятой пациентов достигают стабильного целевого уровня АД [Scheen A.J., 2021].

В настоящее время принято считать, что АГ в большинстве случаев имеет мультигенную основу [Garofalidou T., 2020; Dzau V.J., 2024]. Наряду с этим, генетическая основа ЭГ до сих пор не раскрыта [Liu L., 2019; Scheen A.J., 2021]. Считается, что множество генов влияют на фенотип АД посредством аллельных эффектов отдельных генов и межгенных взаимодействий [S. Pedersen., 2020; Garofalidou T., 2020]. 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 [Яковлев А.В., 2021], информация о них при ЭГ ограничена [Li A.L., 2019]. Вопрос о патогенетическом влиянии SNV генов натриевых каналов на развитие ЭГ до сих пор остаётся открытым. Выбранные для рассмотрения гены натриевых каналов сегодня еще изучаются, научных работ по данной теме недостаточно, что подтверждает актуальность настоящего исследования. В научной литературе не рассматривалось участие SNV натриевых каналов в патогенезе ЭГ у жителей Забайкальского края.

Таким образом, исследование роли SNV генов натриевых каналов в патогенезе ЭГ может углубить понимание патогенетических механизмов ЭГ,

дать оценку вероятности развития заболевания, тем самым, возможно, снизить риск опасных для жизни сердечно-сосудистых осложнений, а также обосновать новые подходы к разработке методов персонифицированной 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. Первые доказательства того, что SNV натриевых каналов были значительно связаны с изменением АД были продемонстрированы Y. Xueli и соавторами в исследовании GenSalt в 2014 г. Роль SNV генов натриевых каналов в развитии АГ в российской популяции не изучена. Существенный вклад в изучение генетического полиморфизма некоторых молекул-участников механизма развития АГ внесли S. Padmanabhan (2015), J. Burrello (2017), E. Evangelou (2018), Y.J. Yang (2018), H. Wang (2020), P. Garimella (2023). Этими исследованиями было продемонстрировано, что 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 (eNOS3), ген эндотелина-1 (EDN1) и другие. Изучена роль генетического полиморфизма некоторых молекул-участников механизма развития гипертензий, включая ионные кальциевые каналы [Пушкарёв Б.С., 2019; Ortnner N., 2023].

В связи с вышеизложенным, актуальным является изучение связи SNV генов натриевых каналов и их функции с ЭГ, что позволит углубить понимание патогенеза и выявить предикторы развития ЭГ в российской популяции.

Цель работы: 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

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.

Методология и методы исследования диссертации

Проведено одномоментное исследование, которое включало в себя сопоставление результатов, полученных при обследовании контрольной группы и группы пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией. В работе использованы лабораторные, инструментальные и статистические методы исследования.

Основные 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.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

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 одобрена локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «ЧГМА» Минздрава России (протокол № 92 от 29.10.2018 г.). 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.

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).

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 патологической физиологии и нормальной физиологии имени профессора Б.И. Кузника.

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 4 глав, заключения, выводов и списка литературы, который включает 256

источников, из них 237 иностранных. Работа иллюстрирована 25 рисунками и 27 таблицами.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследований

Исследование проведено с соблюдением принципов Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964, ред. 2013 г.).

Всего в исследовании «случай-контроль» приняли участие 241 человек (135 пациентов с АГ и 106 человек группы контроля).

Пациенты в группе «Артериальная гипертензия» были сопоставимы по полу, возрасту, степени и стадии АГ, поэтому они объединены и рассматриваются как одна группа.

Критерии включения: наличие у пациентов подтвержденного диагноза АГ, установленного в молодом возрасте от 18 до 44; подписанное информированное согласие на участие в исследовании и обработку личных данных.

Критерии исключения:

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

- а) развитие АГ 2 или 3 степени в молодом возрасте (до 44 лет);
- б) указания на заболевания почек/мочевыделительной системы 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.

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

Исследуемые группы были сопоставимы по полу ($\chi^2=2,9$; $df=1$; $p=0,089$) и возрасту ($p=0,064$).

Число мужчин в группе контроля составило 52,8% (56/106), в группе пациентов с АГ – 63,7% (86/135).

Объектом для исследования являлась цельная кровь, клетки буккального эпителия человека. Забор материала осуществлялся однократно.

Определение SNV генов (rs11064153 SCNN1A, rs4401050 SCNN1G и rs7565062 SCN7A) осуществляли методом ПЦР с использованием праймеров ООО «Тест Ген» (г. Ульяновск). Анализу подвергалась геномная ДНК, выделенная из лейкоцитов цельной крови или буккального эпителия с помощью реагента «Проба Рапид», производства ООО «ДНК-Технология» (г. Москва), затем проводилась реакция амплификации с двумя парами аллель-специфичных праймеров.

Для определения внутриклеточного содержания ионов натрия (Na^+) применен метод визуализации Na^+ внутри клетки с использованием методики фиксации уровня средней интенсивности флуоресценции (MFI) на популяциях нейтрофилов низкой плотности (LDN), используя Na^+ -специфический флуоресцентный краситель под названием ION NaTRIUM Green™-2 AM. Окрашенные клетки анализировали на проточном цитометре CytoFLEX LX (Beckman Coulter, Inc., CA). Флуоресценцию ANG возбуждали с помощью лазера с длиной волны 488 нм, а излучение детектировали в канале PE с помощью полосового фильтра 585/42 нм. Вариативность внутриклеточного содержания ионов Na^+ в популяции LDN, возможно экстраполировать на клетки гладкомышечной клетки артериол, учитывая их одинаковый фенотип по экспрессии CD-14 [Fehrenbach D.J., 2021; Blanco-Camarillo C., 2021].

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.

Статистическая обработка результатов осуществлялась с помощью пакета программ «IBM SPSS Statistics Version 25.0». Учитывая распределение признаков, отличное от нормального на всех этапах исследования, полученные данные представлены в виде медианы, первого и третьего квартилей: Me (Q1; Q3). 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. Диагностическая ценность прогностических моделей, основанных на нейросетевом анализе, определялась путем применения ROC-анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

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

Для исследования функционирования натриевых ионных каналов было изучено внутриклеточное содержание ионов натрия ($[Na^+]_i$) в лейкоцитах с использованием методики фиксации средней интенсивности флуоресценции MFI (mean fluorescent intensity), измеряемой в RFU (relative fluorescence units) [Nakajima T., 2019].

Обнаружено, что различия между уровнем MFI $[Na^+]_i$ в группе АГ и контроля были визуализированы только в популяции нейтрофилов низкой плотности (LDN). 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 Na^+ через натриевые каналы в зависимости от времени, и определить, есть ли различия в двух исследуемых группах.

Нами установлено, что в группе больных АГ уровень средней интенсивности флуоресценции отличался на всех трех временных этапах (таблица 1). Зафиксированный на 120-й минуте от начала исследования, уровень MFI $[Na^+]_i$ значительно выше, чем в группе контроля ($p < 0,001$), что может говорить о различном внутриклеточном содержании ионов Na^+ соответственно. Различия средней интенсивности флуоресценции, зафиксированной на 60-й минуте исследования, в группе контроля и у пациентов с АГ были статистически незначимыми ($p = 0,098$).

Таблица 1 – 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
	1 группа (контроля), n=106	2 группа (АГ), n=135	
MFI-30 [Na ⁺] _i , RFU	231,0 (201,0; 243,0)	197,0 (151,8; 242,2)	U=810,5, p=0,004
MFI-60 [Na ⁺] _i , RFU	373,0 (357,5; 379,5)	358,0 (331,0; 381,7)	U=989,0, p=0,098
MFI-120 [Na ⁺] _i , RFU	535,0 (473,0; 721,0)	701,5 (600,3; 876,5)	U=643,5, p<0,001

Примечание: **MFI** – средняя интенсивность флуоресценции ионов Na⁺ в нейтрофилах; **MFI-30, RFU** – средняя интенсивность флуоресценции, зафиксированная через 30 минут, **MFI-60, RFU** – через 60 минут, **MFI-120, RFU** – через 120 минут; **U** – критерий Манна-Уитни; **p** – уровень статистической значимости.

Таким образом, учитывая уровень MFI [Na⁺]_i, зафиксированный через 120 минут от начала исследования, у пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией отмечено увеличение внутриклеточного содержания ионов натрия в 1,3 раза в сопоставлении 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 Na⁺ внутри клетки при сравнении двух групп: пациентов с АГ и группы контроля.

2. Анализ встречаемости SNV генов *SCNN1A* (rs11064153), *SCNN1G* (rs4401050) и *SCN7A* (rs7565062) натриевых каналов у пациентов с АГ и у здоровых лиц в популяции Забайкальского края

По результатам генотипирования все исследуемые однонуклеотидные варианты генов натриевых каналов (rs11064153, rs4401050 и rs7565062) соответствовали равновесию Харди-Вайнберга.

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 (таблица 2).

Таблица 2 – 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)	χ^2	р-значение	ОШ	
					Значение	ДИ (95%)
Аллель Т	0,774	0,665	7,09	0,008	1,73	1,15–2,58
Аллель С	0,226	0,335			0,58	0,39–0,87
<i>TT</i>	0,570	0,396	8,53	0,004	2,02	1,21–3,39
<i>TC</i>	0,407	0,538			0,59	0,35–0,99
<i>CC</i>	0,022	0,066			0,32	0,08–1,27

Можно отметить, что среди пациентов с АГ в 1,2 раза чаще выявлялась аллель С ($p = 0,002$) и генотип *CC* ($p = 0,001$) 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 *CC* с вероятностью развития АГ (таблица 3).

Таблица 3 – Распределение SNV гена *SCNN1G* (rs4401050) у пациентов с АГ и в группе контроля

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

При исследовании варианта гена *SCN7A* (rs7565062) у пациентов с АГ была выявлена более высокая частота встречаемости аллели Т ($p = 0,009$) 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 (таблица 4).

Таблица 4 – Распределение SNV гена *SCN7A* (rs7565062) у пациентов с АГ и в группе контроля

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

Таким образом, обнаружены различия в распределении частот аллелей и генотипов SNV генов натриевых каналов *SCNN1A* (rs11064153), *SCNN1G* (rs4401050) и *SCN7A* (rs7565062) у больных АГ и у здоровых лиц. Исходя из полученных данных, 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 повышает вероятность развития АГ.

Кроме этого, изучено три выборки в группе пациентов с АГ, имеющих генотипы TT, TC и CC SNV rs11064153 гена *SCNN1A*, оказывающих влияние на внутриклеточное содержание ионов Na^+ (рисунок 1).

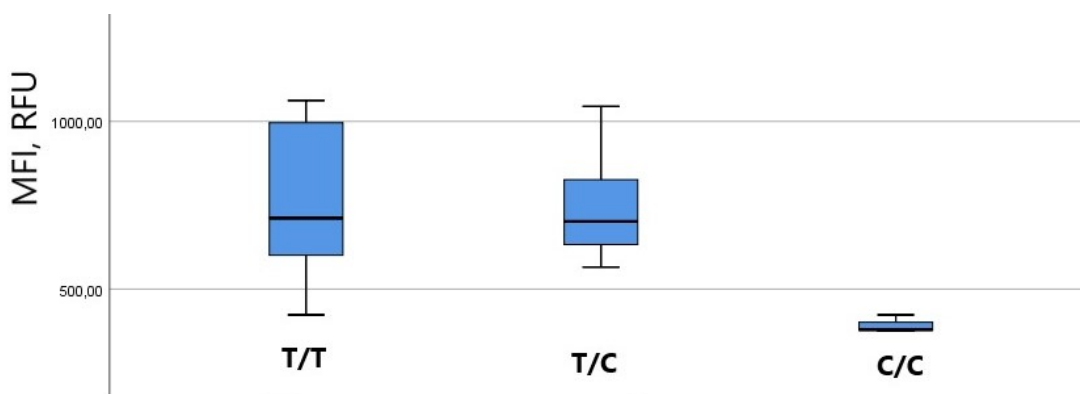


Рисунок 1 – Внутриклеточное содержание ионов Na^+ у лиц с эссенциальной артериальной гипертензией в зависимости от носительства генотипов гена *SCNN1A* (rs11064153)

Анализируя изменения уровня средней интенсивности флуоресценции ионов натрия у пациентов с АГ, установлено, что уровень MFI $[\text{Na}^+]_i$ 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 ($U_{\text{TT-TC}}=387,0$, $p_{\text{TT-TC}}<0,001$). А уровень MFI $[\text{Na}^+]_i$ у пациентов с генотипом TC также превышал

таковой ($U_{\text{TT-CC}} = 17,0$, $p_{\text{TT-CC}} < 0,001$), по сравнению с носительством генотипа *CC* в 1,22 [1,03;1,63] раза.

Результаты данного исследования показали, что в группе больных АГ, по сравнению с группой контроля, носительство генотипа *TT* гена *SCNN1A* (rs11064153) сопровождалось увеличением внутриклеточного содержания ионов Na^+ , что подтверждается повышением уровня MFI $[\text{Na}^+]_i$ у пациентов с АГ. Настоящее исследование позволяет сделать вывод о наличии связи SNV rs11064153 гена *SCNN1A* с изменением содержания $[\text{Na}^+]_i$ и, как следствие, с вероятностью развития ЭГ.

3. Модель прогнозирования развития артериальной гипертензии

В настоящее время задача прогнозирования функционального состояния сложных систем является актуальной в области медицинских исследований. 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 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 параметрам, выбранным на основании их важности; далее указанные параметры вносили в программу SPSS, с входящим в его структуру модулем 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%. Архитектура разработанной нейронной сети представлена на рисунке 2.

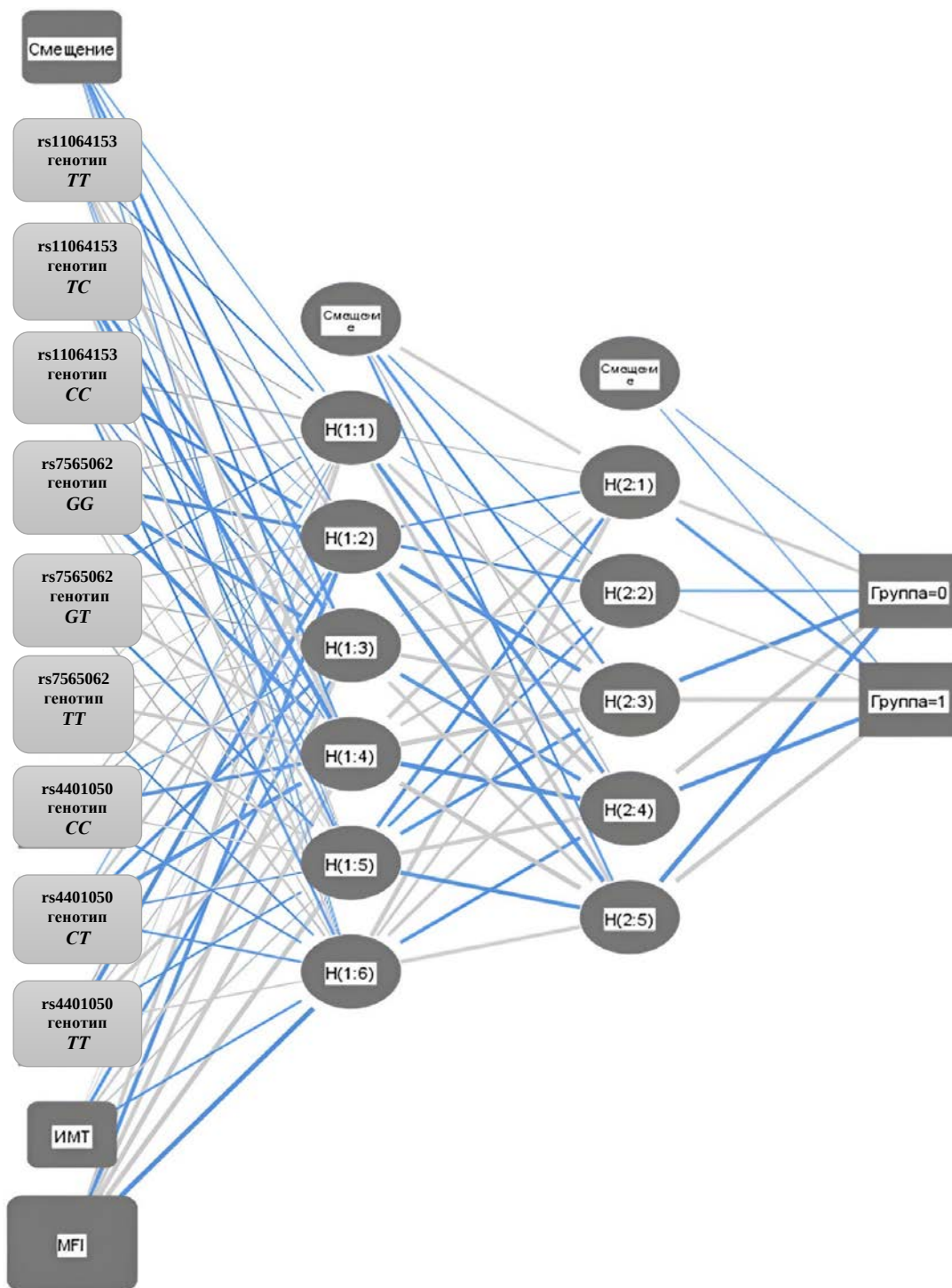


Рисунок 2 – Конфигурация многослойного персептрона, позволяющая прогнозировать развитие артериальной гипертензии

Примечание: Группа = 0 – группа контроля, Группа = 1 – группа АГ, Н – нейроны, входящие в скрытые слои.

Также обращает на себя внимание тот факт, что в процессе тестирования нейронной сети, состоящей из данных 241 человека, точность прогноза разработанной модели составила 90,9% (чувствительность (Se) = 91%,

специфичность (Sp) = 91%, ROC-AUC = 0,96 [95% ДИ 0,91-0,98], $p < 0,001$), что согласуется с результатами обучения нейронной сети и подтверждается результатами ROC-анализа. В нормированном пространстве площадь под ROC-кривой эквивалентна вероятности, что нейронная сеть свидетельствует о приемлемой диагностической точности фактора (рисунок 3).

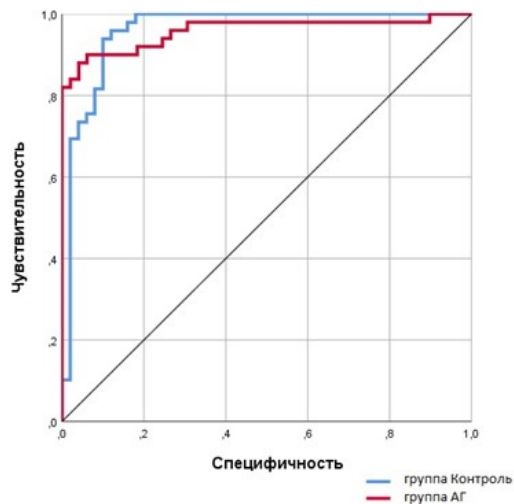


Рисунок 3 – Оценка информативности нейронной сети, позволяющая прогнозировать развитие АГ

Наибольшей важностью в структуре разработанной модели обладали: уровень MFI 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 4).

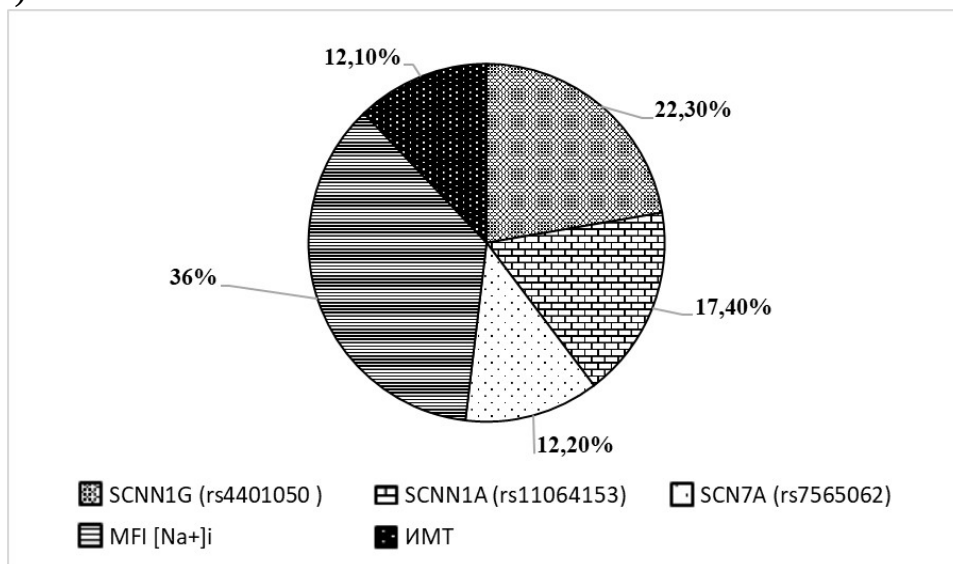


Рисунок 4 – Статистически значимые критерии прогностической модели развития артериальной гипертензии

Таким образом, 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.

В настоящем исследовании выявлена патогенетическая роль однонуклеотидных вариантов генов *SCNN1A* (rs11064153), *SCNN1G* (rs4401050), *SCN7A* (rs7565062) натриевых ионных каналов в развитии ЭГ. Учитывая полученные результаты, нами предлагается концептуальная схема патогенеза ЭГ с участием однонуклеотидных вариантов натриевых каналов (рисунок 5).

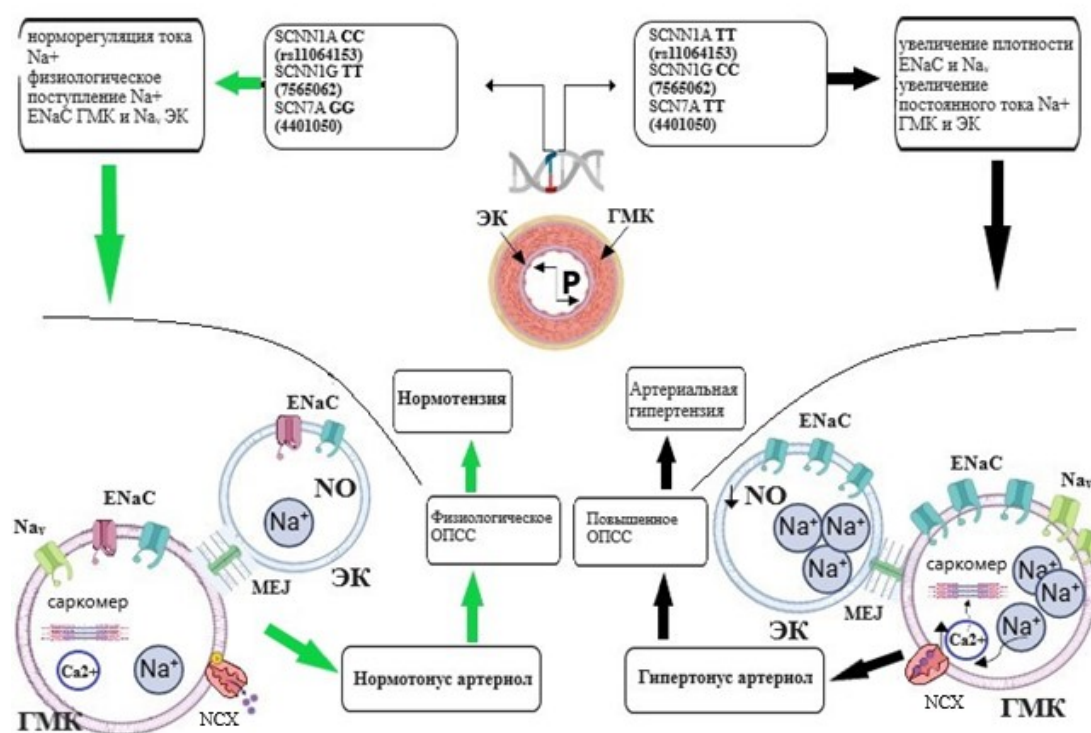


Рисунок 5 – Концептуальная схема патогенеза эссенциальной артериальной гипертензии с участием однонуклеотидных вариантов генов натриевых каналов

Примечание: P – напряжение сдвига (SF, shear stress), ЭК – эндотелиальная клетка, ГМК – гладкомышечная клетка сосудистой клетки (артериолы), ENaC – эпителиальные натриевые каналы, Na_v – потенциал-зависимые натриевые каналы, миоэндотелиальное соединение (MEJ, myoendothelial junction), NO – оксид азота, Na⁺ – ионы натрия, Ca²⁺ – ионы кальция

SCNN1A является геном, кодирующим аминокислотную последовательность порообразующей α-субъединицы ENaC, а ген *SCNN1G* – γ-субъединицы. β- и γ-субъединицы ENaC, в отличие от α-субъединицы, были идентифицированы на плазматической мембране ГМК сосудов [Jernigan N.L., 2006], где они способствуют механизмам развития стойкой вазоконстрикции. Результаты научных экспериментальных работ Drummond H.A. и соавторов

указывают на то, что как β -, так и γ -субъединицы ENaC рассматриваются в качестве сенсоров сосудистой механотрансдукции [Drummond H.A., 2004]. Однако важную роль α -субъединицы ENaC в вазоконстрикции можно объяснить возможностью экспрессироваться в другом типе клеток, например, ЭК [Xu P., 2022; Kashlan O.B., 2024].

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. В качестве сенсора сдвиговой информации может выступать активация ENaC, что приводит к повышенной вероятности открытия канала [Baldin J.P., 2020], увеличению пропускной способности канала и модулируемым изменениям количества каналов на мембране ЭК [Mutchler S.M., 2021].

Наличие Na^+ -каналопатии сопровождается повышением уровня внутриклеточного Na^+ , что влияет на жесткость артериальной стенки, 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 [Li M., 2018]. Внутрисосудистое давление оказывает механическое воздействие на ГМК сосудов, так как ЭК за счет щелевых контактов формирует дополнительную динамическую систему управления сокращением ГМК сосудистой стенки. Субъединицы ENaC образуют пору в ГМК и взаимодействуют с внеклеточным матриксом и белками цитоскелета, выстраивая более крупный механочувствительный комплекс и механически управляемый приток катионов (Na^+ и, скорее всего, Ca^{2+}), запускает вторичные пути передачи сигнала (фосфолипазы, ионные транспортеры). Все больше данных свидетельствуют о том, что повышение внутриклеточного содержания Na^+ переводит $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменник (NCX, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -exchanger) в обратный режим, что способствует агонист-опосредованному входу Ca^{2+} через плазматическую мембрану [Giladi M., 2024]. Перечисленные механизмы инициируют повышение внутриклеточного Ca^{2+} , который в патогенезе развития ЭГ является триггером пролонгированного тонического сокращения. 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 Na^+ -каналопатии претендует на роль одного из основных звеньев патогенеза ЭГ, т.к. преобладание вазоконстрикторных влияний, возникшее в результате дефицита NO, приводит к повышению тонуса ГМК артериол.

Заключение

Полученные нами результаты показали, что в патогенезе 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. 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. Наличие аллели Т и генотипа *TT* однонуклеотидного варианта rs11064153 гена *SCNN1A*; аллели С и генотипа *CC* rs4401050 гена *SCNN1G* эпителиальных натриевых каналов, а также присутствие аллели Т и генотипа *TT* варианта rs7565062 гена *SCN7A* повышают вероятность развития артериальной гипертензии. Иной аспект – это наличие аллели С и генотипа *CC* варианта rs11064153 гена *SCNN1A*; аллели Т и генотипа *TT* гена *SCNN1G* (rs4401050) эпителиальных натриевых каналов, а также присутствие аллели G и генотипа *GG* однонуклеотидного варианта rs7565062 гена *SCN7A*, которые снижают вероятность развития артериальной гипертензии.

Данная работа соответствует концепции приоритетного направления стратегии развития науки и здравоохранения России, в частности – «развитие персонализированной медицины, основанной на современных научных достижениях», «разработка и внедрение современных молекулярно-генетических методов прогнозирования, диагностики и мониторинга течения заболеваний» [Указы Президента РФ № 254 от 06.06.2019, № 145 от 28.02.2024].

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 *C* 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 *T* и генотипа *TT* однонуклеотидного варианта rs11064153 гена *SCNN1A*, аллели *C* и генотипа *CC* rs4401050 гена *SCNN1G*, аллели *T* и генотипа *TT* варианта rs7565062 гена *SCN7A* в сочетании с изменением уровня средней интенсивности флуоресценции ионов натрия.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, определенных ВАК при Минобрнауки России:

1. 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: 09.12.2024).

2. 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: 18.12.2024).

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, Ю.А. Витковский [и др.]. – DOI 10.18705/1607-419X-2022-28-5-593-599 // Артериальная гипертензия. – 2022. – Т. 28, № 5. – С. 593-599. (Scopus)

4. 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/showToc> (дата обращения: 19.12.2024).

Свидетельство о государственной регистрации базы данных:

5. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2024624104 Российская Федерация. Генетические, антропометрические и функциональные показатели, влияющие на развитие артериальной гипертензии у пациентов на территории Забайкальского края / Покоева З.А., Витковский Ю.А. ; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – № 2024623765 ; дата

поступления 04.09.2024 ; дата государственной регистрации в Реестре баз данных 13.09.2024. – 1 с.

Публикации в прочих изданиях:

6. Покоева З.А. Ассоциация полиморфизма гена натриевых каналов SCNN1A с вероятностью развития артериальной гипертензии / З.А. Покоева, Б.С. Пушкарев, О.В. Большакова // Санкт-Петербургские научные чтения – 2022 : сборник тезисов, г. Санкт-Петербург, 7-9 декабря 2022 г. / ответственный редактор Н.А. Гавришева. – Санкт-Петербург, 2022. – С. 77.

7. Ассоциация варианта гена SCNN1G с вероятностью развития эссенциальной артериальной гипертензии у пациентов и у здоровых людей на территории Забайкальского края / З.А. Покоева, Б.С. Пушкарев, О.В. Большакова, Ю.А. Витковский // XXIV съезд физиологического общества им. И.П. Павлова : сборник тезисов съезда, 11-15 сентября 2023 г., г. Санкт-Петербург / под общей редакцией М.Л. Фирсова. – Санкт-Петербург : Издательство ВВМ, 2023. – С. 346–347. – ISBN 978-5-9651-1500-6.

Список 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
а.о.	– аминокислотные остатки
Na _v	– потенциал-зависимые натриевые каналы
ENaC	– эпителиальные натриевые каналы
ПД	– потенциал действия
SF	– сила напряжения сдвига
ГМК	– гладкомышечная клетка сосудистой стенки
ЭК	– эндотелиальная клетка
ЭГ	– эссенциальная артериальная гипертензия
NCX	– Na ⁺ /Ca ²⁺ -обменник
ОПСС	– общее периферическое сопротивление сосудов