

Полиморфизм генов системы эндотелина-1 и риск эссенциальной гипертензии*

Тимашева Я.Р.¹, Насибуллин Т.Р.¹, Имаева Э.Б.¹, Мирсаева Г.Х.², Мустафина О.Е.¹

¹ — Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, г.Уфа, 450054, пр. Октября, 71, e-mail: ianina_t@mail.ru

² — Башкирский государственный медицинский университет, г.Уфа, 450000, ул. Ленина, 3

Система эндотелина-1 играет важную роль в регуляции сосудистого тонуса и процессе ремоделирования сосудов. Цель настоящего исследования состояла в проведении анализа ассоциаций с эссенциальной гипертензией полиморфных вариантов генов эндотелина-1, эндотелинпревращающего фермента, рецепторов эндотелина А и В в этнической группе татар, проживающих в Республике Башкортостан. Нами обнаружена ассоциация полиморфных вариантов rs6842241 гена *EDNRA* и rs5351 гена *EDNRB* с эссенциальной гипертензией у мужчин. Кроме того, повышенный риск эссенциальной гипертензии был отмечен у носителей сочетания генотипа *EDNRA**G/G и аллеля *EDNRB**С, а сочетание аллелей *EDNRA**С и *EDNRB**А обладало протективным эффектом в отношении развития заболевания.

Ключевые слова: эссенциальная гипертензия, генетический полиморфизм, рецепторы эндотелина А и В, APSampler

Введение

Эссенциальная гипертензия (ЭГ), или гипертоническая болезнь, — это хроническое заболевание, основным проявлением которого является стойкое повышение артериального давления (АД) в отсутствие каких-либо патологических процессов, при которых его подъем обусловлен известными причинами (симптоматические артериальные гипертензии). Развитие ЭГ происходит в результате сложного взаимодействия условий внешней среды и генетических факторов, что определяет низкую информативность отдельных полиморфных локусов. В то же время, анализ сочетаний большого числа факторов ограничен возможностями существующего статистического аппарата. Одним из подходов к решению данной проблемы является анализ сочетаний полиморфных ДНК-маркеров генов, продукты которых находятся в тесной функциональной взаимосвязи и играют важную роль в патогенезе заболевания.

Эндотелины — это вазоактивные пептиды, играющие ключевую роль в регуляции водно-солевого баланса, название которых обусловлено тем, что впервые они были выделены из клеток эндотелия аорты [33]. В сердечно-сосудистой системе и в почках преобладающей изоформой является эндотелин-1, хотя эндотелин-2 и эндотелин-3 также экспрессируются в различных органах, включая сердце, легкие, желудочно-кишечный тракт и центральную нервную систему [15, 21]. Эндотелин-1 состоит из 21 аминокислоты и вырабатывается в клетках эндотелия и гладкой мускулатуры сосудов, кардиомиоцитах и фибробластах адвентиции сосудов [1]. Эндотелин-1 образуется в результате посттрансляционного процессинга продукта гена *EDN1*,

пре-про-эндотелина-1, состоящего из 212 аминокислот. Под действием сигнальной пептидазы от пре-про-эндотелина-1 отделяется короткая сигнальная последовательность и образуется про-эндотелин-1, который затем расщепляется под действием специфической эндопептидазы с образованием большого эндотелина-1, состоящего из 38 аминокислот [33]. Большой эндотелин-1 обнаруживается в циркулирующей крови и обладает сосудосуживающим действием (уступая, однако, по активности эндотелину-1, по меньшей мере, в 100 раз) [9]. Превращение большого эндотелина-1 в активную форму катализирует эндотелинпревращающий фермент (ECE).

Эндотелин-1 реализует свои биологические эффекты путем взаимодействия с двумя рецепторами — *EDNR_A* и *EDNR_B*, которые могут экспрессироваться в клетках как вместе, так и по отдельности. *EDNR_A* преобладает в гладкомышечных клетках сосудов и в миоцитах, а *EDNR_B* — в эндотелиальных клетках сосудов и почечных канальцев. *EDNR_A* и *EDNR_B* зачастую демонстрируют антагонизм, в частности в гладкой мускулатуре сосудов активация *EDNR_A* вызывает вазоконстрикцию, а активация *EDNR_B*, по крайней мере, вначале — вазодилатацию. Стимуляция *EDNR_A* также способствует развитию клеточной пролиферации и фиброза, а стимуляция *EDNR_B* имеет противоположный эффект [19]. Обнаружены варианты альтернативного сплайсинга мРНК гена *EDNRB*, имеющие, в частности, отличия в области цитоплазматического домена и 3'-нетранслируемой области и выполняющие роль клиренс-рецептора, удаляя эндотелин-1 из циркуляции [19]. Внутривенное болюсное введение эндотелина-1 приводит к развитию крат-

* Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП «Биомика» (Отделение биохимических методов исследований и нанобиотехнологии РЦКП «Агидель») и УНУ «КОДИНК» и при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 13-04-01561-а).

ковременной гипотензии, сменяющейся пролонгированным повышением АД. Интересно отметить, что как агонисты, так и антагонисты EDNR_B вызывают развитие вазоконстрикции: сосудосуживающий эффект агонистов обусловлен связыванием с рецептором, локализованным на гладкомышечных клетках сосудов, а аналогичное действие антагонистов EDNR_B объясняется тем, что в условиях блокады EDNR_B эндотелин-1 связывается с EDNR_A, а также происходит снижение выработки эндотелий-релаксирующего фактора [19].

Функциональная значимость системы эндотелина-1 для регуляции АД определяет объем проводимых в мире исследований, посвященных ассоциации полиморфных вариантов генов, кодирующих компоненты этой системы, с артериальной гипертензией (АГ). Одним из наиболее хорошо изученных маркеров гена *EDN1* у лиц с сердечно-сосудистыми заболеваниями является полиморфизм rs5370 [29]. В ряде работ выявлена ассоциация аллеля Т полиморфизма rs5370 гена *EDN1* с уровнем АД в зависимости от индекса массы тела [18, 28, 29]. Также выявлена ассоциация аллеля Т с уровнем ET-1 в плазме и показателями АД [4, 10, 18, 25, 30]. В то же время, в исследовании двух популяций жителей Австралии не было обнаружено ассоциации полиморфного варианта rs5370 гена *EDN1* с развитием АГ [32].

При изучении связи полиморфных вариантов гена *ECE1* с гипертензией в популяции японцев была обнаружена ассоциация полиморфизма rs212528 с уровнем АД у женщин [3]. Идентифицировано семь однонуклеотидных полиморфизмов в интроне гена *ECE1*, ассоциированных с изменением уровня диастолического АД у лиц, придерживающихся диеты с пониженным содержанием натрия [14]. Была выявлена ассоциация полиморфизма rs213045 гена *ECE1* с АГ; в частности, у женщин генотип *ECE1**A/A ассоциирован с повышением диастолического, систолического и среднего АД [12].

В рамках изучения ассоциаций полиморфных вариантов гена *EDNRA* с АГ было установлено, что у носителей аллеля G полиморфизма rs5335 (+70C>G) гена *EDNRA* повышен уровень диастолического и среднего АД по сравнению с носителями аллеля C, хотя общий вклад данного локуса в формирование вариативности АД не превышает 2% [24]. У австралийцев англо-кельтского происхождения с семейными формами ЭГ была найдена ассоциация однонуклеотидной замены 1363C>T гена *EDNRA* с заболеванием [5].

Продемонстрирована ассоциация полиморфизма rs5351, связанного с синонимичной заменой G на A в пятом экзоне гена *EDNRB* (1065G>A, Leu277Leu) с физиологическими особенностями сосудистой системы. В популяции японцев у носителей аллеля G среднего и пожилого возраста без признаков сердечно-сосудистой патологии занятия физической активностью приводили к снижению жесткости сосудистой стенки, в то время как у лиц с генотипом A/A по данному полимор-

физму подобного эффекта не наблюдалось [16]. В другом исследовании данный полиморфизм был идентифицирован в качестве независимого фактора риска атеросклероза у мужчин-японцев с ЭГ [34]. У итальянцев частота аллеля rs5351*A гена *EDNRB* была понижена среди пациентов с сольчувствительной АГ, что может свидетельствовать об участии данного полиморфизма в развитии гипертензии [6].

Таким образом, несмотря на обилие исследований, касающихся роли полиморфных вариантов генов системы эндотелина-1 в развитии ЭГ, противоречивые результаты этих исследований, а также специфика каждого из них (отсутствие учета этнической принадлежности участников, объем выборок, характер статистической обработки данных) не позволяет сделать однозначный вывод о роли изученных локусов в развитии заболевания.

Цель настоящего исследования состояла в анализе ассоциаций полиморфных вариантов генов эндотелина-1 (*EDN1*), эндотелинпревращающего фермента (*ECE*), рецепторов эндотелина (*EDNRA* и *EDNRB*) с эссенциальной гипертензией (ЭГ), а также с учетом комплексного характера заболевания, в поиске сочетаний генотипов и/или аллелей исследуемых генов, ассоциированных с риском развития заболевания.

Материалы и методы

Исследование было выполнено в соответствии с этическими принципами проведения медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта, закрепленными в Хельсинкской декларации (2013). Разрешение на проведение исследования было получено от комитета по этике ИБГ УНЦ; все участники дали письменное информированное добровольное согласие.

Материалом для исследования послужили образцы ДНК 526 чел. (212 больных ЭГ и 314 лиц группы контроля). Группа больных состояла из 212 мужчин (средний возраст составил $53,2 \pm 8,4$ года) с длительностью заболевания более года. Диагноз ЭГ устанавливался на основании Национальных рекомендаций по профилактике, диагностике и лечению артериальной гипертензии второго пересмотра (2004 г.). Обследование проводилось на базе Республиканского кардиологического центра г.Уфы. Все больные прошли обследование, включавшее сбор жалоб, изучение анамнеза, физикальное обследование, общий и биохимический анализ крови и мочи, ЭКГ в 12 стандартных отведениях, эхокардиографическое и доплеровское исследование, а также велоэргометрию и холтеровское мониторирование по показаниям. Контрольную группу составили 314 мужчин (средний возраст $43,6 \pm 7,1$ года) без признаков сердечно-сосудистых и других хронических заболеваний. Все участники исследования принадлежали к этнической группе

татар и постоянно проживали на территории Республики Башкортостан.

Критериями для исключения из исследования было наличие сахарного диабета, выраженных сопутствующих заболеваний легких, желудочно-кишечного тракта, печени, почек, заболеваний крови и нарушений обмена веществ.

ДНК выделяли из 8 мл цельной венозной крови. Генотипирование проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с аллельспецифичными праймерами, которые были подобраны с использованием программы DNASTar 5.05 и базы данных однонуклеотидных полиморфизмов dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>). Номенклатура исследуемых локусов и последовательности праймеров приведены в табл. 1. Полученные фрагменты разделяли в 2%-ном агарозном геле и идентифицировали с помощью видеогельдокументирующей системы Mega-Bioprint 1100 (Vilber Lourmat, Франция).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета компьютерных программ IBM SPSS Statistics 21.0. Анализ отклонения наблюдаемых частот генотипов от теоретически ожидаемого равновесного распределения Харди—Вайнберга проводился с помощью программы Arlequin 3.0. Для сравнения групп по частотам генотипов использовался точный двусторонний тест Фишера. Относительный риск заболевания у носителей определенного аллеля или генотипа вычислялся как показатель соотношения шансов (OR — odds ratio). При анализе ассоциаций полиморфных локусов с учетом возраста манифестации заболевания возрастные группы определялись с помощью алгоритма CHAID из пакета прикладных программ IBM SPSS Decision Trees 21. Анализ ассоциаций сочетаний аллелей и/или генотипов с ЭГ проводился с помощью программы APSampler 3.6.0. Программа и её описание представлены на сайте <https://code.google.com/p/apsampler>, основной алгоритм описан в статье А.В. Фаворова с соавторами [11]. В качестве поправки на множественность сравнений использовался тест Бенджамини—Хохберга. Различия считались значимыми при $P_{FDR} < 0,05$.

Результаты

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфных вариантов исследуемых генов представлено в табл. 2. Наблюдаемое распределение частот генотипов в контрольной группе соответствовало теоретически ожидаемому, согласно закону Харди—Вайнберга. Нами обнаружены различия между группами больных и контроля по частотам генотипов и аллелей генов *EDNRA* и *EDNRB*.

Генотип *EDNRA**A/A встречался с большей частотой в группе пациентов с ЭГ, нежели в контрольной группе (8,25% против 2,23%, $p = 0,006$). Показатель относительного риска по данному генотипу составил 3,94, что свидетельствует о наличии предрасположенности к ЭГ у носителей генотипа *EDNRA**A/A.

Доля гетерозигот и гомозигот по аллелю *A гена *EDNRB* была понижена среди пациентов с ЭГ по сравнению с группой контроля (26,77% против 47,14%, $p = 2,5 \cdot 10^{-5}$; и 6,06% против 13,33, $p = 0,019$ соответственно). Показатели относительного риска составили 0,38 и 0,42 соответственно, что указывает на протективную роль генотипа *G/G и аллеля *G в отношении развития заболевания. Частота генотипа *G/G гена *EDNRB* была повышена в группе больных ЭГ (67,17% против 39,52% в группе контроля, $p = 2,39 \cdot 10^{-8}$), что позволяет считать его предрасполагающим к развитию гипертензии (OR = 3,13). Данный эффект был более выражен при проведении анализа с учетом возраста манифеста-

Таблица 1

Номенклатура исследуемых генов, последовательности праймеров, размер амплифицируемых фрагментов

| Ген, хромосомная локализация | Полиморфизм | Праймеры | Размеры фрагментов |
|------------------------------|---------------------------------|--|--------------------|
| <i>EDN1</i> 6q21 — 23 | Rs5370 +5665G/T Lys198Asn | F 5'-agtcaggaaccagcagagga-3' G 5'-atccgaagctgaaaggcaag-3' T 5'-atccgaagctgaaaggcaat-3' | [327] |
| <i>ECE1</i> 1p36.1 | rs213045 | F 5'-ccaactgaagcccctagca-3' R 5'-gggaactgaaaggggacacc-3' G 5'-atcaggaaggtgccctcgatg-3' T 5'-atcaggaaggtgccctcgatt-3' | 145 BK 255 |
| <i>EDNRA</i> 4q31.22 | rs6842241 | F 5'-aactgcctctttggaggaa-3' R 5'-accaccattgaaagaggccta-3' A 5'-tggttgctgattctcctca-3' C 5'-tggttgctgattctcctcc-3' | 104 BK 231 |
| <i>EDNRB</i> 13q22 | rs5351 | F 5'-agtgtggcctgaaagattctg-3' R 5'-tcttacctgcttaggtgatcatt-3' A 5'-acagcaaaagattggtggcta-3' G 5'-acagcaaaagattggtggctg-3' | 147 BK 308 |

Обсуждение

ции заболевания: у лиц в возрасте до 45 лет включительно показатель отношения шансов по генотипу *EDNRB**G/G составил 3,48, а у с лиц старше 45 лет — 2,71 (табл. 3).

С помощью алгоритма APSSampler нами был проведен поиск сочетаний аллелей и/или генотипов по исследуемым полиморфным маркерам, ассоциированных с ЭГ, и было найдено 431 сочетание. После введения поправки на множественность сравнений осталось два сочетания (с $OR \geq 2$ для сочетаний, ассоциированных с повышенным риском ЭГ, и $OR \leq 0,5$ для сочетаний, ассоциированных с пониженным риском заболевания): пониженный риск заболевания был отмечен у носителей сочетания аллелей *EDNRA**C-*EDNRB**A ($OR = 0,27$, $P_{FDR} = 4,86 \cdot 10^{-8}$), в то время как сочетание *EDNRA**G/G-*EDNRB**C было связано с наличием предрасположенности к заболеванию ($OR = 4,87$, $P_{FDR} = 2,06 \cdot 10^{-3}$) (табл. 4).

Нами был проведен анализ ассоциаций с ЭГ полиморфных локусов в генах *EDN1*, *ECE1*, *EDNRA* и *EDNRB* и выявлена ассоциация с заболеванием полиморфных вариантов rs5351 гена *EDNRB* и rs6842241 гена *EDNRA*.

Однонуклеотидный полиморфизм rs5351 гена *EDNRB* представляет собой синонимичную замену G на A в 1065 позиции экзона 5 (*Leu277Leu*), кодирующего пятый трансмембранный домен белка. Обнаружена ассоциация генотипа *EDNRB**G/G с сольчувствительной гипертензией в популяции итальянцев [6]. Yasuda с соавторами (2007) сообщали о найденной ими ассоциации *EDNRB* rs5351 с атеросклерозом у страдающих гипертензией мужчин, но не у женщин [34]. Авторами было высказано предположение о том, что сосудосуживающее и атерогенное действие эндотелина-1 может

Таблица 2

Распределение частот генотипов и аллелей исследуемых полиморфных локусов у больных эссенциальной гипертензией и в контрольной группе

| Генотип/аллель | Контроль | Больные | p | OR | CI _{OR} |
|----------------|--------------------|--------------------|-------------------------------|------|------------------|
| | p ± S _p | p ± S _p | | | |
| <i>EDNRA</i> | | | | | |
| *C/C | 71,88 ± 3 | 69,07 ± 3,32 | 0,591 | — | — |
| *C/A | 25,89 ± 2,93 | 22,68 ± 3,01 | 0,494 | — | — |
| *A/A | 2,23 ± 0,99 | 8,25 ± 1,98 | 0,006 | 3,94 | 1,42—10,96 |
| *C | 84,82 ± 1,7 | 80,41 ± 2,01 | 0,099 | — | — |
| *A | 15,18 ± 1,7 | 19,59 ± 2,01 | | — | — |
| <i>EDNRB</i> | | | | | |
| *G/G | 39,52 ± 3,37 | 67,17 ± 3,34 | 2,39 × 10⁻⁸ | 3,13 | 2,09—4,7 |
| *G/A | 47,14 ± 3,44 | 26,77 ± 3,15 | 2,5 × 10⁻⁵ | 0,38 | 0,25—0,57 |
| *A/A | 13,33 ± 2,35 | 6,06 ± 1,7 | 0,019 | 0,42 | 0,21—0,85 |
| *G | 63,1 ± 2,35 | 80,56 ± 1,99 | 3,08 × 10⁻⁸ | 2,42 | 1,76—3,33 |
| *A | 36,9 ± 2,35 | 19,44 ± 1,99 | | 0,41 | 0,3—0,56 |
| <i>EDN1</i> | | | | | |
| *G/G | 62,76 ± 2,84 | 61,39 ± 3,43 | 0,777 | — | — |
| *G/T | 31,38 ± 2,72 | 35,15 ± 3,36 | 0,382 | — | — |
| *T/T | 5,86 ± 1,38 | 3,47 ± 1,29 | 0,289 | — | — |
| *G | 78,45 ± 1,71 | 78,96 ± 2,03 | 0,875 | — | — |
| *T | 21,55 ± 1,71 | 21,04 ± 2,03 | | — | — |
| <i>ECE1</i> | | | | | |
| *G/G | 55,78 ± 2,85 | 50,48 ± 3,45 | 0,243 | — | — |
| *G/T | 36,63 ± 2,77 | 37,62 ± 3,34 | 0,853 | — | — |
| *T/T | 7,59 ± 1,52 | 11,9 ± 2,23 | 0,123 | — | — |
| *G | 74,09 ± 1,78 | 69,29 ± 2,25 | 0,103 | — | — |
| *T | 25,91 ± 1,78 | 30,71 ± 2,25 | | — | — |

Примечание. p ± S_p — частота генотипа/аллеля ± средняя ошибка; p — статистическая значимость (жирным шрифтом выделены значения p < 0,05); OR — значение показателя соотношения шансов (odds ratio); CI_{OR} — доверительный интервал

иметь гендерную специфичность. Это подтверждается данными экспериментов на животных, продемонстрировавших, что у самцов вазоконстрикторное действие эндотелина-1 более выражено, чем у самок, а также показавших, что эстроген ослабляет степень сосудистого спазма, обусловленного эндотелином-1 [17, 27]. При сравнении группы людей, ведущих активный образ жизни, с группой лиц, склонных к гиподинамии, обнаружено, что у носителей аллеля *EDNRB* *G снижены проявления атеросклероза и лучше состояние упруго-эластических свойств сосудистой стенки [16]. Кроме того, было обнаружено, что у носителей генотипа *EDNRB**G/G, страдающих бронхиальной астмой, повышен риск обструкции дыхательных путей, что может отражать вклад данного полиморфизма в контроль тонуса гладкой мускулатуры [26].

Полиморфизм rs6842241 локализован в регуляторной области гена *EDNRA* и находится в тесном сцеплении с другим локусом (rs6841581), влияющим на прочность связывания рецептора с лигандом [35]. Выявлена ассоциация полиморфизма rs6842241 с развитием субарахноидальных кровоизлияний в популяции японцев [22]. Сведений об ассоциации данного полиморфизма с другими заболеваниями нами не обнаружено.

Полиморфный вариант rs213045, локализованный в промоторной области гена *ECE1*, входит в состав последовательности, являющейся мишенью для фактора транскрипции E2F. Обнаружено, что аллель *A данно-

го полиморфизма в составе гаплотипов rs213045*A/rs213046*T и rs213045*A/rs213046*G ассоциирован с повышением уровня экспрессии гена *ECE1* [13]. Выявлена также ассоциация гаплотипа rs213045*A/rs213046*G с повышенным уровнем АД у женщин, не наблюдавшаяся в группе мужчин [13]. Таким образом, отсутствие ассоциаций полиморфизма rs213045 гена *ECE1* с ЭГ в нашем эксперименте может быть обусловлено тем, что группа исследования состояла из мужчин.

Полиморфизм rs5370 в гене *EDN1* связан с изменением аминокислотной последовательности (замена лизина на аспарагин в кодоне 198 про-эндотелина-1), однако функциональная значимость его остается неясной, так как этот участок отщепляется в процессе образования биологически активного эндотелина-1. В исследованиях HERITAGE и HYPGENE была обнаружена ассоциация минорного аллеля *T с повышением АД при физической нагрузке у людей, склонных к гиподинамии, не наблюдавшаяся в группе лиц, активно занимающихся спортом [25]. Выявлена также ассоциация данного аллеля с повышением уровня АД при ожирении [2, 28]. В недавнем исследовании была продемонстрирована ассоциация полиморфизма rs5370 с уровнем С-концевого-про-эндотелина-1 — стабильного нефункционального фрагмента, образующегося при расщеплении пре-про-эндотелина-1 и используемого для косвенной оценки выработки эндотелина-1 [23, 31].

Таблица 3

Результаты анализа ассоциаций полиморфизма rs5351 гена *EDNRB* с эссенциальной гипертензией с учётом возраста манифестации заболевания

| Генотип/ Аллель | ≤ 45 лет | | p | OR | CI _{OR} | > 45 лет | | p | OR | CI _{OR} |
|--------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|------|------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|--------------|------|------------------|
| | Контроль | Больные | | | | Контроль | Больные | | | |
| | p _i ± S _i % | p _i ± S _i % | | | | p _i ± S _i % | p _i ± S _i % | | | |
| *G/G | 41,53 ± 4,54 | 71,19 ± 4,17 | 6,94 × 10⁻⁶ | 3,48 | 2,03—5,98 | 36,96 ± 5,03 | 61,33 ± 5,62 | 0,002 | 2,71 | 1,45—5,08 |
| *G/A | 44,07 ± 4,57 | 20,34 ± 3,71 | 1,51 × 10⁻⁴ | 0,32 | 0,18—0,57 | 51,09 ± 5,21 | 36 ± 5,54 | 0,061 | — | — |
| *A/A | 14,41 ± 3,23 | 8,47 ± 2,56 | 0,219 | — | — | 11,96 ± 3,38 | 2,67 ± 1,86 | 0,039 | 0,2 | 0,04 — 0,93 |
| *G | 63,56 ± 3,13 | 81,36 ± 2,53 | 2,13 × 10⁻⁵ | 2,5 | 1,64—3,81 | 62,5 ± 3,57 | 79,33 ± 3,31 | 0,001 | 2,3 | 1,4—3,77 |
| *A | 36,44 ± 3,13 | 18,64 ± 2,53 | | 0,4 | 0,26—0,61 | 37,5 ± 3,57 | 20,67 ± 3,31 | | 0,43 | 0,26—0,71 |

Примечание. p ± s_p — частота генотипа/аллеля ± средняя ошибка; p — статистическая значимость (жирным шрифтом выделены значения p<0,05); OR — значение показателя соотношения шансов (odds ratio); CI_{OR} — доверительный интервал

Таблица 4

Результаты анализа ассоциаций сочетаний генотипов и аллелей исследуемых полиморфных локусов с эссенциальной гипертензией

| <i>EDNRA</i> rs6842241 | <i>EDNRB</i> rs5351 | Контроль (%) | Больные ЭГ (%) | p | P _{FDR} | OR | CI _{OR} |
|---------------------------|------------------------|-----------------|-------------------|------------------------|-----------------------|------|------------------|
| *C | *A | 60,29 | 29,32 | 3,47*10 ⁻¹⁰ | 4,86*10 ⁻⁸ | 0,27 | 0,18—0,41 |
| *A/A | *G | 1,84 | 8,38 | 2,06*10 ⁻³ | 8,01*10 ⁻³ | 4,87 | 1,60—14,83 |

Примечание. p — статистическая значимость; OR — значение показателя соотношения шансов (odds ratio); P_{FDR} — поправка на множественность сравнений по методу Бенджамини—Хохберга; CI_{OR} — 95% доверительный интервал

Таким образом, нами впервые была обнаружена ассоциация полиморфного варианта rs6842241 гена рецептора эндотелина А с ЭГ и подтверждены обнаруженные ранее ассоциации полиморфного варианта rs5351 гена рецептора эндотелина В с гипертензией у мужчин-татар. Ассоциаций с заболеванием полиморфных локусов гена эндотелина-1 и эндотелинпревращающего фермента не найдено. Следует отметить, что при анализе ассоциаций сочетаний генотипов и/или аллелей исследуемых локусов с ЭГ, позволяющем выявить аддитивный эффект полиморфных вариантов, не определяемый при индивидуальном анализе, нами были обнаружены сочетания, ассоциированные с ЭГ, также состоявшие исключительно из аллелей/генотипов полиморфных вариантов генов *EDNRA* и *EDNRB*. Таким образом, можно предположить, что ключевым механизмом в аспекте влияния эндотелина-1 на формирование предрасположенности к ЭГ является его взаимодействие с рецепторами. Исследование клинической эффективности антагониста *EDNR_A* атрасентана позволило выявить снижение АД по данным суточного мониторинга, а также улучшение показателей липидного спектра [8]. Эксперименты с блокадой *EDNR_A* и *EDNR_B* у лабораторных животных показали довольно противоречивые результаты. У свиней с индуцированной гипертензией блокада *EDNR_A* приводила к снижению воспаления, фиброза и ремоделирования микрососудистого русла, а также к повышению пролиферации сосудов, в то время как блокада *EDNR_B* не вызывала подобных эффектов [7]. В то же время, при использовании селективного агониста *EDNR_B* у мышей наблюдалось повышение внутриклеточного содержания кальция, сопоставимое по выраженности с наблюдаемым при введении эндотелина-1 [20].

Таким образом, необходимы дальнейшие исследования, которые позволят прояснить роль компонентов системы эндотелина-1 в развитии ЭГ, в том числе особенности функционирования данной системы у мужчин и женщин.

Список литературы

1. An S.J. et al. Endothelin-1 expression in vascular adventitial fibroblasts // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. — 2006. — Vol. 290, № 2. — H700—H708.
2. Asai T. et al. Endothelin-1 Gene Variant Associates With Blood Pressure in Obese Japanese Subjects The Ohasama Study // *Hypertension*. — 2001. — Vol. 38, № 6. — P. 1321—1324.
3. Banno M., Hanada H., Kamide K. et al. Association of genetic polymorphisms of endothelin-converting enzyme-1 gene with hypertension in a Japanese population and rare missense mutation in preproendothelin-1 in Japanese hypertensives // *Hypertension Research*. — 2007. — Vol. 30, № 6. — P. 513.
4. Barden A.E., Herbison C.E., Beilin L.J. et al. Association between the endothelin-1 gene Lys198Asn polymorphism blood pressure and plasma endothelin-1 levels in normal and pre-eclamptic pregnancy // *Journal of hypertension*. — 2001. — Vol. 19, № 10. — P. 1775—1782.
5. Benjafield A.V., Katyk K., Morris B.J. Association of *EDNRA*, but not *WNK4* or *FKBP1B*, polymorphisms with essential hypertension // *Clinical genetics*. — 2003. — Vol. 64, № 5. — P. 433—438.
6. Caprioli J. et al. Polymorphisms of *EDNRB*, *ATG*, and *ACE* genes in salt-sensitive hypertension // *Canadian journal of physiology and pharmacology*. — 2008. — Vol. 86, № 8. — P. 505—510.
7. Chade A.R., Stewart N.J., Peavy P.R. Disparate effects of single endothelin-A and-B receptor blocker therapy on the progression of renal injury in advanced renovascular disease // *Kidney international*. — 2014. — Vol. 85, № 4. — P. 833—844.
8. de Zeeuw D. et al. The endothelin antagonist atrasentan lowers residual albuminuria in patients with type 2 diabetic nephropathy // *J. Am. Soc. Nephrol*. — 2014. — Vol. 25, № 5. — P. 1083—1093.
9. D'Orleans-Juste P. et al. Synthesis and degradation of endothelin-1 // *Canadian journal of physiology and pharmacology*. — 2003. — Vol. 81, № 6. — P. 503—510.
10. Dzholdasbekova A.U., Gaipov A.E. The association between polymorphism of Lys198Asn of endothelin-1 gene and arterial hypertension risk in Kazakh people // *European Journal of General Medicine*. — 2010. — Vol. 7, № 2.
11. Favorov A.V. et al. A Markov chain Monte Carlo technique for identification of combinations of allelic variants underlying complex diseases in humans // *Genetics*. — 2005. — Vol. 171, № 4. — P. 2113—2121.
12. Funalot B., Courbon D., Brousseau T. et al. Genes encoding endothelin-converting enzyme-1 and endothelin-1 interact to influence blood pressure in women: the EVA study // *Journal of hypertension*. — 2004. — Vol. 22, № 4. — P. 739—743.
13. Funke-Kaiser H. et al. Differential binding of transcription factor E2F-2 to the endothelin-converting enzyme-1b promoter affects blood pressure regulation // *Human molecular genetics*. — 2003. — Vol. 12, № 4. — P. 423—433.
14. Gu D., Zhao Q., Kelly T.N. et al. The Role of the Kallikrein-Kinin System Genes in the Salt Sensitivity of Blood Pressure The GenSalt Study // *American journal of epidemiology*. — 2012. — Vol. 176. — Suppl 7. — P. S72—S80.
15. Hiyama T.Y. et al. Endothelin-3 expression in the subfornical organ enhances the sensitivity of Na^x, the brain sodium-level sensor, to suppress salt intake // *Cell metabolism*. — 2013. — Vol. 17, № 4. — P. 507—519.
16. Iemitsu M. et al. Polymorphism in endothelin-related genes limits exercise-induced decreases in arterial stiffness in older subjects // *Hypertension*. — 2006. — Vol. 47, № 5. — P. 928—936.
17. Jiang C. et al. Acute effect of 17 beta-estradiol on rabbit coronary artery contractile responses to endothelin-1 // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. — 1992. — Vol. 263, № 1. — P. H271—H275.
18. Jin J.J., Nakura J., Wu Z. et al. Association of endothelin-1 gene variant with hypertension // *Hypertension*. — 2003. — Vol. 41, № 1. — P. 163—167.
19. Kohan D.E. et al. Regulation of blood pressure and salt homeostasis by endothelin // *Physiological reviews*. — 2011. — Vol. 91, № 1. — P. 1—77.
20. Lenoir O. et al. Direct action of endothelin-1 on podocytes promotes diabetic glomerulosclerosis // *Journal of the American Society of Nephrology*. — 2014. — Vol. 25, № 5. — P. 1050—1062.
21. Ling L., Maguire J.J., Davenport A.P. Endothelin-2, the forgotten isoform: emerging role in the cardiovascular system, ovarian development, immunology and cancer // *British journal of pharmacology*. — 2013. — Vol. 168, № 2. — P. 283—295.
22. Low S.K. et al. Genome-wide association study for intracranial aneurysm in the Japanese population identifies three candidate susceptible loci and a functional genetic variant at *EDNRA* // *Human molecular genetics*. — 2012. — dds020.

23. Papassotiriou J. et al. Immunoluminometric assay for measurement of the C-terminal endothelin-1 precursor fragment in human plasma // *Clinical chemistry*. — 2006. — Vol. 52, № 6. — P. 1144–1151.
24. Rahman T., Baker M., Hall D.H. et al. Common genetic variation in the type A endothelin-1 receptor is associated with ambulatory blood pressure: a family study // *Journal of human hypertension*. — 2008. — Vol. 22, № 4. — P. 282–288.
25. Rankinen T. et al. Effect of endothelin 1 genotype on blood pressure is dependent on physical activity or fitness levels // *Hypertension*. — 2007. — Vol. 50, № 6. — P. 1120–1125.
26. Taille C. et al. ETB receptor polymorphism is associated with airway obstruction // *BMC pulmonary medicine*. — 2007. — Vol. 7, № 1. — P. 5.
27. Tatchum-Talom R. et al. Gender differences in hemodynamic responses to endothelin-1 // *Journal of cardiovascular pharmacology*. — 2000. — Vol. 36. — P. S102.
28. Tiret L. et al. The Lys198Asn polymorphism in the endothelin-1 gene is associated with blood pressure in overweight people // *Hypertension*. — 1999. — Vol. 33, № 5. — P. 1169–1174.
29. Treiber F.A., Barbeau P., Harshfield G. et al. Endothelin-1 gene Lys198Asn polymorphism and blood pressure reactivity // *Hypertension*. — 2003. — Vol. 42, № 4. — P. 494–499.
30. Vadapalli S., Rani H.S., Sastry B.K.S. et al. Endothelin-1 and endothelial nitric oxide polymorphisms in idiopathic pulmonary arterial hypertension // *International journal of molecular epidemiology and genetics*. — 2010. — Vol. 1, № 3. — P. 208.
31. Verweij N. et al. Genome-wide association study on plasma levels of midregional-proadrenomedullin and C-terminal-pro-endothelin-1 // *Hypertension*. — 2013. — Vol. 61, № 3. — P. 602–608.
32. Wiltshire S., Powell B.L., Jennens M. et al. Investigating the association between K198N coding polymorphism in EDN1 and hypertension, lipoprotein levels, the metabolic syndrome and cardiovascular disease // *Human genetics*. — 2008. — Vol. 123, № 3. — P. 307–313.
33. Yanagisawa M. et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells // *Nature*. — 1988. — Vol. 332, № 6163. — P. 411–415.
34. Yasuda H. et al. Association of single nucleotide polymorphisms in endothelin family genes with the progression of atherosclerosis in patients with essential hypertension // *Journal of human hypertension*. — 2007. — Vol. 21, № 11. — P. 883–892.
35. Yasuno K. et al. Common variant near the endothelin receptor type A (EDNRA) gene is associated with intracranial aneurysm risk // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. — 2011. — Vol. 108, № 49. — P. 19707–19712.

Polymorphisms of endothelin-1 system genes and risk of essential hypertension

Timasheva Y.R.¹, Nasibullin T.R.¹, Imaeva E.B.¹, Mirsaeva G.Kh.², Mustafina O.E.¹

¹ — Institute of Biochemistry and Genetics of Ufa Scientific Centre of Russian Academy of Sciences, Ufa, 450054, pr. Oktyabrya, 71, ianina_t@mail.ru

² — Bashkir State Medical University, Ufa, 450000, ul. Lenina, 3

Endothelin-1 system plays an important role in regulation of vascular tone and vascular remodeling. The aim of the current study was to perform an analysis of association between essential hypertension and polymorphic variants in genes, encoding endothelin-1, endothelin-converting enzyme, endothelin receptors A and B, in the ethnic group of Tatars residing in the Republic of Bashkortostan. We found an association of *EDNRA* rs6842241 and *EDNRB* rs5351 polymorphic variants with essential hypertension in men. Furthermore, an increased risk of essential hypertension was detected for the carriers of *EDNRA**G/G genotype and *EDNRB**C allele combination, while *EDNRA**C and *EDNRB**A alleles combination had protective effect against the development of the disease.

Key words: essential hypertension, genetic polymorphism, endothelin receptors A and B, APSampler