

## Ассоциации артериального давления и артериальной гипертензии с генетическими маркерами, отобранными по данным полногеномных исследований

Малютина С. К., Максимов В. Н., Орлов П. С., Маздорова Е. В., Рябиков А. Н., Никитин Ю. П., Воевода М. И.

Генетически детерминированная предрасположенность к артериальной гипертензии (АГ) и регуляции артериального давления (АД) интенсивно изучается в полногеномных ассоциативных исследованиях (GWAS). Результаты GWAS требуют репликации на независимых выборках.

**Цель.** Изучение в российской популяционной выборке ассоциаций АД и АГ с полиморфизмом генетических маркеров, идентифицированных в GWAS.

**Материал и методы.** В дизайне "случай-контроль" мы рекрутировали лиц с АГ, установленной до 50 лет по критериям АД  $\geq 140/90$  мм рт.ст. и/или принимающих гипотензивную терапию, и лиц с "нормальным" АД по данным двух обследований из популяционной выборки, Новосибирск. Всего включено 514 мужчин/женщин, 45-69 лет. По материалам GWAS были отобраны 24 маркера гипертензии, настоящий анализ выполнен по 8 маркерам (rs13082711, rs1173771, rs13107325, rs3918226, rs1799945, rs805303, rs1458038, rs932764). Использовали стандартизованные эпидемиологические методы исследования (измерение АД, антропометрия, медицинская история АГ и лечения, факторы риска АГ, социально-демографические параметры). Однонуклеотидные полиморфизмы (ОНП) тестировали с помощью ПЦР в реальном времени.

**Результаты.** В исследованной выборке реплицирована ассоциация полиморфизма rs3918226 промотора гена эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) с уровнем систолического АД (мужчины, носители T-аллеля, имели систолическое АД на 9 мм рт.ст. выше против генотипа CC,  $p=0,049$  независимо от возраста). Выявлена новая ассоциация полиморфизма rs932764 гена фосфолипазы C-эпсилон изоформы (PLCE1) с АГ (протективный характер генотипа AG у мужчин,  $p=0,017$  независимо от возраста и массы тела). Подтверждена ассоциация полиморфизма rs13107325 гена растормимого носителя семейства 39/транспортера Zn/член 8 (SLC39A8) с систолическим АД (у мужчин, носителей C-аллеля, показатели систолического АД были выше против генотипа TT,  $p=0,044$  в мультивариантном анализе).

**Заключение.** В анализе связи фенотипов АД и АГ с 8 генетическими маркерами в российской популяционной выборке реплицированы две известные ассоциации, выявлена новая ассоциация и получены данные по модулирующему эффекту пола и массы тела. Эти связи в сибирской популяции, отличной от ранее исследованных популяций по профилю факторов риска, климато-географическим и другим параметрам, предполагают вовлеченность идентифицированных или близких локусов в механизмы предрасположенности к АГ.

Российский кардиологический журнал. 2018;23(10):8–13  
http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2018-10-8-13

**Ключевые слова:** артериальное давление, эссенциальная артериальная гипертензия, генетические маркеры, однонуклеотидные полиморфизмы, полно-геномное ассоциативное исследование, популяция.

**Финансирование.** Работа поддержана РФФИ (13-04-01955) и бюджетом РАН (0324-2018-0001).

**Конфликт интересов:** не заявлен.

**Благодарности.** Авторы благодарны проф. М. Bobak за помощь в планировании работы, с.н.с. Щербаковой Л.В., с.н.с. Веревкину Е.Г. за участие в создании базы данных.

Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины — филиал ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Институт Цитологии и Генетики сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия.

Малютина С. К. — д.м.н., профессор, зав. лабораторией этиопатогенеза и клиники внутренних заболеваний, ORCID: 0000-0001-6539-0466, WoS: J-1651-2018, Максимов В. Н. — д.м.н., доцент, зав. лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, ORCID: 0000-0002-7165-4496, WoS: H-7676-2012, Орлов П. С. — н.с. лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, ORCID: 0000-0001-9371-2178, WoS: T-6245-2018, Маздорова Е. В.\* — к.м.н., н.с. лаборатории этиопатогенеза и клиники внутренних заболеваний, ORCID: 0000-0003-0415-6478, WoS: J-4734-2018, Рябиков А. Н. — д.м.н., профессор, в.н.с. лаборатории этиопатогенеза и клиники внутренних заболеваний, ORCID: 0000-0001-9868-855X, WoS: J-4565-2018, Никитин Ю. П. — д.м.н., академик РАН, ORCID: 0000-0002-3932-2299, WoS: D-2774-2018, Воевода М. И. — д.м.н., академик РАН, директор, ORCID: 0000-0001-9425-413X, WoS: N-6713-2015.

\*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): mazdorova@mail.ru

АГ — артериальная гипертензия, АД — артериальное давление, ДАД — диастолическое артериальное давление, ИМТ — индекс массы тела, ЛПВП — липопротеины высокой плотности, ОНП — однонуклеотидные полиморфизмы, ПЦР — полимеразная цепная реакция, САД — систолическое артериальное давление, ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания, eNOS — эндотелиальная NO-синтаза, GWAS — genome-wide association study (полно-геномное ассоциативное исследование), PLCE1 — фосфолипазы C-эпсилон изоформы, SLC39A8 — растормимый носитель семейства 39/транспортера Zn/член 8.

Рукопись получена 31.05.2018

Рецензия получена 23.07.2018

Принята к публикации 30.07.2018

## The association of blood pressure and hypertension with genetic markers identified in genome-wide association studies

Malyutina S. K., Maksimov V. N., Orlov P. S., Mazdorova E. V., Ryabikov A. N., Nikitin Yu. P., Voevoda M. I.

Genetic background of hypertension (AT) and blood pressure (BP) regulation is extensively investigated in genome-wide association studies (GWAS). The findings from recent GWAS require replication in independent samples.

**Aim.** To investigate the association between BP and AT in Russian population and several single nucleotide polymorphisms identified in GWAS.

**Material and methods.** In the frame of "case-control" design we recruited subjects with AT diagnosed at age below 50 according to the criteria of BP  $>140/90$  mm Hg and/or receiving antihypertensive therapy, and subjects with normotension according to 2 examinations from population sampling, Novosibirsk, totally included 514, men/women aged 45-69 years). From published GWAS we selected 24 genetic

markers related to hypertension, 8 markers were included for present analysis (rs13082711, rs1173771, rs13107325, rs3918226, rs1799945, rs805303, rs1458038, rs932764). Standard epidemiological methods were used (BP measurement, anthropometry, medical history of AT and treatment, risk factors of AT, socio-demographic parameters). Single nucleotide polymorphisms (SNPs) were tested using real time PCR.

**Results.** In studied sample we replicated the association between rs3918226 (promoter region of gene of endothelial NO synthase; eNOS) and systolic BP (T-allele carriers had 9 mm Hg higher systolic BP than CC carriers in men,  $p=0,049$  independent of age). New association was found between rs 932764 (gene of

phospholipase-c-epsilon-1 isoform, *PLCE1*) and AT (heterozygotes genotype AG was protective in men,  $p=0,017$  independent of age and body mass). The association between rs13107325 (gene of soluble carrier family 39/zinc transporter/member 8, *SLC39A8*) and systolic BP was confirmed (in men, C-allele carriers had higher systolic BP values than TT carriers,  $p=0,044$ , multivariable adjusted).

**Conclusion.** In analysis of relationship between phenotypes of BP and AT and 8 genetic markers of AT in Russian population sample we replicated two known associations, revealed new association and identified new data on modulating effect of sex and body mass. These replications in newly studied Siberian population, different from early studied populations by risk factors profile, climate, geographic and other parameters, support the involvement of identified or close loci in potential mechanisms of AT susceptibility.

**Russian Journal of Cardiology.** 2018;23(10):8–13

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2018-10-8-13>

**Key words:** blood pressure, essential hypertension, genetic markers, single nucleotide polymorphisms, wide-genome association study, population.

**Funding.** This study was supported by the Russian Foundation for Basic Research (13-04-01955) and the budget of the Russian Academy of Sciences (0324-2018-0001).

Высокая распространенность и серьезное прогностическое значение определяют глобальность проблемы артериальной гипертензии (АГ). По данным Всемирной организации здравоохранения около 1 млрд людей в мире страдают АГ, что приводит ежегодно к 9,5 млн смертей от ее осложнений [1].

Новые данные в отношении генетической детерминированности АГ предоставляет полногеномное сканирование. В недавних полногеномных исследованиях (GWAS) идентифицировано более 50 локусов, значимо ассоциированных с систолическим (САД), и диастолическим артериальным давлением (ДАД) и АГ [2-7]. В последние 5 лет полногеномными проектами, выполненными в мультистадийном дизайне на выборках порядка 100-200 тыс. индивидуумов, выявлены новые маркеры АГ [8, 9].

Целью настоящей работы является изучение в российской популяционной когорте ассоциаций артериального давления (АД) и АГ с полиморфизмом ряда генетических маркеров, идентифицированных по данным GWAS.

Настоящая работа является второй частью публикации результатов исследования [10] и включает анализ по 8 маркерам.

### Материал и методы

Исследование проводилось по дизайну “случай-контроль”. Объект исследования: 514 человек 45-69 лет, отобранных из российской популяционной когорты долгосрочного наблюдения (Новосибирск), ранее включенной в международный консорциум HYPERGENES по изучению генетических детерминант эссенциальной гипертензии с применением технологий GWAS [11, 12]. Выбор возрастного диапазона 45-69 лет обусловлен формированием отчетливых

**Conflicts of interest:** nothing to declare.

**Acknowledgements.** We would like to thank prof. M. Bobak for help in planning the work, Sherbakova L.V., Verevkin E.G. for participation in the creation of the database.

SRI of Therapy and Prevention Medicine — branch of SD RAS, The Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, Russia.

Malyutina S. K. ORCID: 0000-0001-6539-0466, WoS: J-1651-2018, Maksimov V. N. ORCID: 0000-0002-7165-4496, WoS: H-7676-2012, Orlov P. S. ORCID: 0000-0001-9371-2178, WoS: T-6245-2018, Mazdorova E. V. ORCID: 0000-0003-0415-6478, WoS: J-4734-2018, Ryabikov A. N. ORCID: 0000-0001-9868-855X, WoS: J-4565-2018, Nikitin Yu. P. ORCID: 0000-0002-3932-2299, WoS: D-2774-2018, Voevoda M. I. ORCID: 0000-0001-9425-413X, WoS: N-6713-2015.

**Received:** 31.05.2018 **Revision Received:** 23.07.2018 **Accepted:** 30.07.2018

количественных (уровень АД) и качественных (наличие АГ/нормотензия) фенотипов у обследуемых в этом возрасте. Группы включения: группа “случай” и группа “контроль”. В группу “случай” вошли мужчины и женщины с диагнозом АГ, установленным в возрасте до 50 лет по критериям АД  $\geq 140/90$  мм рт.ст. (ESH, 2003; РМОАГ/ВНОК 2010) и/или принимающие гипотензивную терапию ( $n=346$ ; 60% мужчин). Контрольная группа (1:2) включала парных по полу и возрасту лиц с “нормальным” АД по той же классификации, подтвержденным не менее чем в двух обследованиях, разделенных интервалом не менее 6 мес. ( $n=168$ ). Обследуемая популяционная выборка является европеоидной. Исследование одобрено Этическим Комитетом НИИТПМ. Участники подписали информированное согласие.

Использовали стандартизованные эпидемиологические методы исследования (измерение АД, антропометрия, медицинская история АГ и лечения, оценка факторов риска АГ, социально-демографические параметры), и лабораторные методы (ПЦР в реальном времени).

АД участника измеряли в 2-сессиях, с промежутком в 1 нед. После отдыха 5 мин, АД измеряли последовательно 5 раз. Использовали автоматический цифровой тонометр АД (Omron M5-1). Персонал был стандартизован по контролю качества измерения АД на основе рекомендаций Британского общества гипертензии (BHS).

Измерение массы тела производили с точностью до 0,2 кг, измерение роста — с точностью до 0,5 см, измерение объема талии и бедер — с точностью до 0,5 см. Использовали рычажные медицинские весы и стандартный ростометр. Расчет антропометрических индексов проводили по стандартным формулам.

**Таблица 1**

**Частоты генотипов ОНП в группе с АГ и контрольной группе (мужчины и женщины, 45-69 лет, Новосибирск)**

ОНП	Генотипы	Контрольная группа		АГ		p
		n	%	n	%	
<b>Мужчины</b>						
rs13082711 SLC4A7	CC	8	6,8	7	4	0,389
	CT	36	30,8	64	36,6	
	TT	73	62,4	104	59,4	
rs13107325 SLC39A8	CC	94	79,7	147	84	0,271
	CT	16	13,6	23	13,1	
	TT	8	6,8	5	2,9	
rs1173771 NPR3-C5orf23	AA	22	19	37	21,1	0,324
	AG	54	46,6	92	52,6	
	GG	40	34,5	46	26,3	
rs1799945 HFE	GG	3	2,5	2	1,2	0,503
	CG	35	29,7	45	26	
	CC	80	67,8	126	72,8	
rs805303 BAT2-BAT5	AA	17	14,5	18	10,2	0,297
	AG	43	36,8	79	44,9	
	GG	57	48,7	79	44,9	
rs932764 PLCE1	AA	31	27	51	30,4	0,235
	AG	62	53,9	74	44	
	GG	22	9,1	43	25,6	
rs 1458038 FGF5	CC	61	51,7	78	44,8	0,492
	CT	48	40,7	79	45,4	
	TT	9	7,6	17	9,8	
rs3918226 eNOS	CC	103	90,4	147	85,0	0,047
	CT	9	7,9	26	15,0	
	TT	2	1,8	0	0	
<b>Женщины</b>						
rs13082711 SLC4A7	CC	2	5,4	8	6,7	0,943
	CT	12	32,4	40	33,6	
	TT	23	62,2	71	59,7	
rs13107325 SLC39A8	CC	27	75	76	63,9	0,317
	CT	3	8,3	22	18,5	
	TT	6	16,7	21	17,6	
rs1173771 NPR3-C5orf23	AA	10	27	22	18,5	0,069
	AG	22	59,5	58	48,7	
	GG	5	13,5	39	32,8	
rs1799945 HFE	GG	0	0	7	6	0,237
	CG	11	30,6	41	35,3	
	CC	25	69,4	68	58,6	
rs805303 BAT2-BAT5	AA	4	11,1	16	13,8	0,170
	AG	20	55,6	44	37,9	
	GG	12	33,3	56	48,3	
rs932764 PLCE1	AA	6	20	37	36,3	0,042
	AG	20	66,7	41	40,6	
	GG	4	13,3	23	22,8	
rs 1458038 FGF5	CC	15	40,5	51	42,9	0,968
	CT	18	48,6	56	47,1	
	TT	4	10,8	12	10,1	
rs3918226 eNOS	CC	29	85,3	98	86,7	0,661
	CT	5	14,7	13	11,5	
	TT	0	0	2	1,8	

Из образцов клеток крови выполнена экстракция ДНК и генотипирование по 24 маркерам (rs11646213, rs17367504, rs11191548, rs12946454, rs16998073, rs1530440, rs653178, rs1378942, rs1004467, rs381815, rs2681492, rs2681472, rs3184504, rs2384550, rs6495122,

rs6773957, rs13082711, rs1173771, rs13107325, rs3918226, rs1799945, rs805303, rs1458038, rs932764). В настоящий анализ включены 8 последних из перечисленных локусов. ДНК выделяли методом фенол-хлороформной экстракции. Однонуклеотидные полиморфизмы (ОНП) тестировали с помощью ПЦР в реальном времени. В случайной подвыборке (10%) использовали дополнительные методики, в частности, высокочувствительный анализ плавления (HRM-анализ). Воспроизводимость результатов составила 95-96%.

Для статистического анализа использовали SPSS (v.13.0) и SAS (v.9.1). Для распределения ОНП тестировали отклонение от равновесия Харди-Вайнберга в контрольной группе (по критерию Хи-квадрат). При нормальном распределении достоверность различий средних проверяли с помощью t-теста для двух независимых выборок. При отклонении от нормального распределения, сравнение проводилось с помощью теста Крускала-Уоллиса, достоверность различий дополнительно проверяли с помощью теста Манна-Уитни для двух независимых выборок. Определяли частоты генотипов и аллелей ОНП в группе АГ и контроле. Ассоциация ОНП с факторными показателями проверялась с помощью таблиц сопряженности (Хи-квадрат Пирсона). Относительный риск заболевания вычисляли как отношение шансов (Odds ratio, OR). Ассоциации с дихотомизированными генотипами оценивали в одновариантной и многовариантной логистической регрессионной регрессии. Различия рассматривали как статистически значимые при  $p < 0,05$ .

**Результаты**

В проекте в целом, исследовали 24 перспективных маркера АГ, отобранных по данным GWAS. В настоящий анализ включены 8 генетических маркера. По результатам генотипирования, из исследуемых ОНП, отклонение от равновесия Харди-Вайнберга в контрольной группе выявлено для ОНП rs932764 гена фосфолипазы С-эпсилон изоформы ( $p < 0,05$ ). Это связано с тем, что контрольная группа не полностью соответствует критериям групп, где должно соблюдаться равновесие Харди-Вайнберга. Выполнен анализ ассоциаций количественного (уровни АД) и качественного фенотипов (АГ) с генетическими маркерами. В первую очередь, проведена сравнительная оценка частот генотипов для 24 ОНП, наблюдаемых в полной выборке, в группах с АГ (случай) и нормотензией (контроль). Частоты генотипов исследованных ОНП в контрольной группе и группе с АГ представлены в таблице 1. Дальнейшие оценки были сделаны в отношении средних уровней АД для различных генотипов ОНП — в общей выборке и при распределении по полу (табл. 2).

Для полиморфизма rs3918226 промотора гена эндотелиальной NO синтазы (eNOS) в нестандартной

Таблица 2

Уровни САД и ДАД в зависимости от генотипов ОНП (мужчины, женщины 45-69 лет, Новосибирск)

ОНП	Генотипы	n	АД систолическое М (SD)	p	АД диастолическое М (SD)	p
<b>Мужчины</b>						
rs13082711 <i>SLC4A7</i>	CC	15	141,62 (26,96)	0,999	88,61 (17,2)	0,997
	CT	100	141,9 (24,1)		88,69 (12,08)	
	TT	177	141,8 (24,76)		88,57 (12,04)	
rs13107325 <i>SLC39A8</i>	CC	241	142,86 (25,47)	0,033	88,96 (12,56)	0,099
	CT	39	140,35 (20,1)		88,58 (11,52)	
	TT	13	124,8 (10,35)		81,42 (7,35)	
rs1173771 <i>NPR3-C5orf23</i>	AA	59	139,27 (19,97)	0,273	88,01 (11,35)	0,523
	AG	146	144,12 (26,53)		89,47 (12,66)	
	GG	86	139,6 (24,12)		87,71 (12,54)	
rs1799945 <i>HFE</i>	GG	5	138,57 (18,24)	0,837	90,77 (15,84)	0,497
	CG	80	140,46 (24,36)		87,26 (11,98)	
	CC	206	142,17 (24,76)		89,08 (12,45)	
rs805303 <i>BAT2-BAT5</i>	AA	35	144,93 (26,23)	0,142	88,3 (12,98)	0,068
	AG	122	144,29 (26,05)		90,57 (12,75)	
	GG	136	138,75 (22,54)		87,01 (11,64)	
rs932764 <i>PLCE1</i>	AA	82	142,48 (25,91)	0,573	88,7 (12,49)	0,597
	AG	136	139,9 (24,03)		87,75 (12,08)	
	GG	65	143,45 (24,01)		89,61 (12,97)	
rs 1458038 <i>FGF5</i>	CC	139	140,76 (24,55)	0,606	88,08 (12,38)	0,544
	CT	127	143,05 (24,66)		89,43 (12,6)	
	TT	26	138,58 (22,91)		87,09 (10,15)	
rs3918226 <i>eNOS</i>	CC	250	140,97 (24,54)	0,033	88,72 (12,59)	0,319
	CT	35	151,32 (22,44)		89,78 (9,78)	
	TT	2	122,5 (4,95)		76,33 (2,36)	
<b>Женщины</b>						
rs13082711 <i>SLC4A7</i>	CC	10	151,02 (33,83)	0,827	93,59 (22,49)	0,639
	CT	52	148,52 (23,24)		89,26 (10,69)	
	TT	93	146,76 (23,98)		89,92 (13,26)	
rs13107325 <i>SLC39A8</i>	CC	102	147,27 (25,22)	0,771	89,02 (13,08)	0,344
	CT	25	151,05 (22,21)		91,38 (10,39)	
	TT	27	147,02 (22,78)		92,87 (15,17)	
rs1173771 <i>NPR3-C5orf23</i>	AA	32	147,68 (22,6)	0,908	89,75 (11,38)	0,596
	AG	80	146,9 (26,33)		90,87 (14,35)	
	GG	43	148,93 (21,97)		88,33 (12,21)	
rs1799945 <i>HFE</i>	GG	7	148,12 (18,12)	0,934	92,98 (9,61)	0,787
	CG	51	149,06 (24,76)		90,46 (12,94)	
	CC	93	147,48 (24,68)		89,62 (13,76)	
rs805303 <i>BAT2-BAT5</i>	AA	20	144,72 (21,53)	0,819	86,84 (14,07)	0,360
	AG	64	146,25 (22,02)		89,08 (11,58)	
	GG	67	148,12 (25,38)		91,25 (14,03)	
rs932764 <i>PLCE1</i>	AA	43	148,63 (21,33)	0,955	91,66 (11,85)	0,842
	AG	61	148,8 (27,98)		90,48 (15,22)	
	GG	27	150,33 (21,6)		89,9 (9,89)	
rs 1458038 <i>FGF5</i>	CC	65	149,53 (26,23)	0,653	89,55 (11,98)	0,187
	CT	14	146,75 (22,63)		91,37 (14,30)	
	TT	16	143,95 (24,54)		84,80 (11,57)	
rs3918226 <i>eNOS</i>	CC	125	147,73 (24,97)	0,844	89,53 (12,46)	0,985
	CT	18	145,65 (18,60)		89,1 (11,92)	
	TT	2	139,33 (9,9)		88,5 (10,61)	

зованном анализе подтверждена ассоциация с АГ ( $p=0,047$ ) (табл. 1) и уровнем САД у мужчин ( $p=0,033$ ) (табл. 2). В отношении количественного фенотипа (уровень АД) среди мужчин носителей Т аллеля (ТТ/СТ) САД было на 9 мм рт.ст. выше, чем у носителей СС генотипа 149,8 мм рт.ст. против 140,9 мм рт.ст.,

$p=0,041$ ). В мультивариантном анализе связь полиморфизма rs3918226 с САД сохранялась с пограничным уровнем значимости для мужчин ( $p=0,049$ ).

В обследованной выборке по нестандартизованным данным выявлена ассоциация полиморфизма rs932764 гена фосфолипазы С-эпсилон изоформы

(*PLCE1*) с частотой АГ ( $p=0,027$ ) в объединенной по полу выборке. Гетерозиготный генотип АГ имел протективный характер, у носителей АГ отношение шансов иметь АГ по сравнению с носителями генотипов АА/ГГ составило 0,78 у женщин (95% CI: 0,642-0,957;  $p=0,010$ ); также у гетерозигот выявлена тенденция к уменьшению риска АГ у мужчин по сравнению с гомозиготами ( $p=0,065$ ). В мультивариантном регрессионном анализе ассоциация данного полиморфизма с АГ не зависела от возраста и индекса массы тела и была достоверной у мужчин (АГ против АА/ГГ; OR=0,42, 95% CI: 0,207-0,854,  $p=0,017$ ). В отношении количественного фенотипа стандартизованный анализ не выявил связи полиморфизма в локусе rs932764 с уровнем АД в исследованной выборке.

В изученной выборке подтверждена по нестандартизованным оценкам ассоциация полиморфизма rs13107325 (ген растворимого носителя семейства 39/транспортера Zn/член 8 (*SLC39A8*)) с уровнем систолического АД у мужчин. У носителей генотипов СС и СТ уровни САД были достоверно выше, чем у носителей генотипа ТТ (142,8/140,3/124,8 мм рт.ст.,  $p=0,033$ ) (табл. 2). В мультивариантном анализе эта связь подтверждена у мужчин ( $p=0,044$ ). Ассоциации с качественным фенотипом АГ в исследованной выборке не получено.

### Обсуждение

В городской популяции Новосибирска исследовали ассоциации количественного и качественного фенотипов (АД/АГ) с полиморфизмом генетических маркеров, исходно отобранных по данным GWAS. В проекте в целом, исследовали 24 маркера. Настоящая работа является второй частью публикации результатов и включает анализ по 8 перспективным маркерам.

В результате анализа в сибирской популяции подтверждена ассоциация полиморфизма rs3918226 промотора гена *eNOS* с уровнем САД. У мужчин-носителей Т аллеля уровень САД был выше, чем при гомозиготном генотипе СС независимо от возраста (с пограничным уровнем значимости,  $p=0,049$ ). По данным мета-анализа Salvi E, et al. (2012) [11] на объеме  $n=21714$  субъектов для Т аллеля rs3918226 было получено повышение риска АГ (OR=1,34; 95% CI: 1,25-1,44;  $p=1,032 \cdot 10^{-14}$ ). Ген *eNOS* является критическим медиатором сердечного гомеостаза и контроля АД, осуществляемого через регуляцию сосудистого тонуса. В отношении потенциального механизма связи выявленного маркера с регуляцией АД идентифицирован сайт связывания транскрипционных факторов, расположенный рядом с локусом rs3918226, предполагающий потенциальную модуляцию экспрессии гена *eNOS* [11]. По данным популяционного компонента в исследовании Salvi E, et al. (2013) [12], гомозиготный генотип ТТ локуса rs3918226 гена *eNOS* был ассоциирован с высоким риском АГ среди европейцев. Отно-

шение рисков составило для носителей гомозиготного генотипа ТТ 2,04 (95% CI: 1,24-3,37;  $p=0,0054$ ,  $n=2013$ ). В популяции за 7,6 лет наблюдения уровни САД/ДАД увеличились на 9,7/6,8 мм рт.ст. у 28 ТТ носителей гомозигот и на 3,8/1,9 мм рт.ст. у 2694 носителей С аллеля ( $p \leq 0,0004$ ). Полученные нами на независимой выборке результаты реплицировали данную ассоциацию и выявили также контекст-зависимость генетического риска от мужского пола.

В обследованной нами выборке выявлена ассоциация ОНП rs932764 гена *PLCE1* с частотой АГ ( $p=0,027$ ). Гетерозиготный генотип АГ имел протективный характер со снижением у мужчин индекса шансов наличия АГ до 0,42 ( $p=0,017$ ) независимо от возраста и индекса массы тела. В мета-анализе International Consortium for Blood Pressure GWAS (29 исследований на европейской популяции,  $n=200,000$ ) [8] была получена ассоциация полиморфизма rs932764 гена *PLCE1* с САД ( $B=0,484$ ,  $p=7,1 \cdot 10^{-16}$ ) и ДАД ( $B=0,185$ ;  $p=8,1 \cdot 10^{-7}$ ), соответственно. По литературным данным, патогенетически данный локус может потенциально модулировать АД через ряд генов, вовлеченных в регуляцию функций почек. Учитывая разрозненные данные о связи полиморфизма локуса rs932764 гена *PLCE1* с уровнем АД в литературе и выявленную в нашей выборке наименьшую частоту АГ у мужчин с гетерозиготным генотипом, независимую от важных детерминант АГ (возраста и индекса массы тела (ИМТ)), полученные результаты являются новыми, однако требуют проверки на больших выборках.

В изученной популяционной выборке подтверждена ассоциация полиморфизма rs13107325 гена *SLC39A8* (транспортера Zn) с уровнем систолического АД у мужчин (более высокие уровни САД у носителей С аллеля;  $p=0,044$  в мультивариантном анализе). Rs13107325 расположен на 4-й хромосоме в экзоне гена *SLC39A8*. Мутация в этом локусе приводит к замене в структуре белков аминокислоты Аланин на незаменимую Треонин: А [Ala]  $\Rightarrow$  Т [Thr]. Данные мета-анализа International Consortium for Blood Pressure GWAS [8] показали ассоциации полиморфизма rs13107325 гена *SLC39A8* с САД ( $B=-0,981$ ,  $p=3,3 \cdot 10^{-14}$ ) и ДАД  $B=-0,684$ ,  $p=2,3 \cdot 10^{-17}$  (более низкое АД у носителей Т аллеля). На сегодня механизм ассоциации указанного полиморфизма с уровнем АД неясен и может быть связан с регуляцией транспорта ионов металлов, в частности, транспортер цинка также участвует в транспорте кадмия и магния. Недавно получены ассоциации Т аллеля гена *SLC39A8* с ИМТ [13] и циркулирующими уровнями липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) ( $B=-0,017$ ,  $p=2,1 \cdot 10^{-3}$ ) [14], где авторы предполагают возможность связи с уровнями АД через медиаторы воспаления. В мета-анализе из 37874 человек были обнаружены значимые ассоциации ЛПВП и ДАД с полиморфизмом *SLC39A8* независимо от ИМТ [15].

### Заключение

В результате анализа ассоциаций качественного и количественного фенотипов АГ и АД с 8 генетическими маркерами в выборке из российской популяционной когорты нами были реплицированы положительные результаты полногеномных исследований для полиморфизмов rs3918226 промотора гена эндотелиальной NO синтазы *eNOS* и rs13107325 гена растворимого носителя семейства 39/транспортера *Zn/SLC39A8*. Также были получены новые данные по связи полиморфизма rs932764 гена фосфолипазы С-эпсилон изоформы *PLCE1* с частотой АГ (протективный характер гетерозиготного генотипа), ранее убедительно не показанной, и результаты по контекст-зависимости связей АГ с изученными молекулярными маркерами (модулирующий эффект пола и массы тела). Репликация ряда ассоциаций генетических маркеров, селективированных по данным GWAS, с АГ/АД в выборке из российской популяции,

отличной от ранее исследованных зарубежных популяций по профилю факторов риска, климато-географическим и другим параметрам, предполагает единые механизмы вовлеченности идентифицированных локусов в патогенез АГ. Накопление конкретных данных по генетической детерминации риска АГ приближает перспективы разработки новых стратегий профилактики и лечения данного заболевания и его осложнений.

**Благодарности.** Авторы благодарны проф. М. Vobak за помощь в планировании работы, с.н.с. Щербаковой Л. В., с.н.с. Веревкину Е. Г. за участие в создании базы данных.

**Финансирование.** Работа поддержана РФФИ (13-04-01955) и бюджетом РАН (0324-2018-0001).

**Конфликт интересов:** все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

### Литература/References

1. A global brief on hypertension. Silent killer, global public health crisis WHO/DCO/WHO/2013.2. [http://www.who.int/cardiovascular\\_diseases/publications/global\\_brief\\_hypertension/en/](http://www.who.int/cardiovascular_diseases/publications/global_brief_hypertension/en/) (Feb 2013).
2. Adeyemo A, Gerry N, Chen G, et al. A Genome-Wide Association Study of Hypertension and Blood Pressure in African Americans. *PLoS Genet.* 2009;5(7):1-11. e1000564. doi:10.1371/journal.pgen.1000564.
3. Levy D, Ehret G, Rice K, et al. Genome-wide association study of blood pressure and hypertension. *Nature Genetics.* 2009;41:677-87. doi:10.1038/ng.384.
4. Org E, Eyheramendy S, Juhanson P, et al. Genome-wide scan identifies *CDH13* as a novel susceptibility locus contributing to blood pressure determination in two European populations. *Hum Mol Genet.* 2009;18(12):2288-96. doi:10.1093/hmg/ddp135.
5. Newton-Cheh C, Johnson T, Gateva V, et al. Genome-wide association study identifies eight loci associated with blood pressure. *Nat Genet.* 2009;41(6):666-76. doi:10.1038/ng.361.
6. The Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature.* 2007;447(7145):661-78.
7. Ehret GB, Morrison AC, O'Connor AA, et al. Replication of the Wellcome Trust genome-wide association study of essential hypertension: The Family Blood Pressure program. *Eur J Hum Genet.* 2008;16(12):1507-11. doi:10.1038/ejhg.2008.102.
8. Ehret GB, Munroe PB, Rice KM, et al. The International Consortium for Blood Pressure Genome-Wide Association Studies. Genetic variants in novel pathways influence blood pressure and cardiovascular disease risk. *Nature.* 2011;478:103-9. doi:10.1038/nature10405.
9. Wain LV, Verwoert GC, O'Reilly PF, et al. Genome-wide association study identifies six new loci influencing pulse pressure and mean arterial pressure. *Nature Genetics.* 2011;43:1005-11. doi:10.1038/ng.922.
10. Maximov VN, Orlov PC, Malyutina SK, et al. Association of genetic markers in hypertensive disease in Siberian population. *Russ J Cardiol.* 2014;19(10):73-6. (In Russ.) Максимов В. Н., Орлов П. С., Малютин С. К., и др. Ассоциация генетических маркеров с артериальной гипертензией в сибирской популяции. *Российский кардиологический журнал.* 2014;19(10):73-6.
11. Salvi E, Kutalik Z, Glorioso N, et al. Genome-wide association study using a high-density SNP-array and case-control design identifies a novel essential hypertension susceptibility locus in the promoter region of *eNOS*. *Hypertension.* 2012;59(2):248-55. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.181990.
12. Salvi E, Kuznetsova T, Thijs L, et al. Target sequencing, cell experiments, and a population study establish endothelial nitric oxide synthase (*eNOS*) gene as hypertension susceptibility gene. *Hypertension.* 2013;62(5):844-52. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.01428.
13. Speliotes EK, Willer CJ, Berndt SI, et al. Association analyses of 249,796 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index. *Nat Genet.* 2010;42(11):937-48. doi:10.1038/ng.686.
14. Waterworth DM, Ricketts SL, Song K, et al. Genetic variants influencing circulating lipid levels and risk of coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30(11):2264-76. doi:10.1161/ATVBAHA.109.201020.
15. van Vliet-Ostapchouk JV, den Hoed M, Luan J, Zhao JH. Pleiotropic effects of obesity-susceptibility loci on metabolic traits: a meta-analysis of up to 37,874 individuals. *Diabetologia.* 2013;56(10):2134-46. doi:10.1007/s00125-013-2985-y.