

## ПОЛИМОРФИЗМ G894T ГЕНА ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ СИНТАЗЫ ОКСИДА АЗОТА У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА И САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

Давыдчик Э. В. (davydchike@mail.ru), Снежицкий В. А. (snezh@grsmu.by), Степура Т. Л. (mikhno\_t@yahoo.com), Никонова Л. В. (lola.nikonova.58@mail.ru)  
УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь

*Цель исследования. Оценить частоту встречаемости генотипов и аллелей полиморфного варианта G894T гена эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) у пациентов с наличием хронической ишемической болезни сердца, а также у практически здоровых лиц, проживающих на территории Гродненской области.*

*Материал и методы. Обследованы 135 пациентов. Среди них: 65 пациентов с ИБС и сахарным диабетом (СД) 2 типа, 70 пациентов с ИБС без СД 2 типа. В группу контроля вошли 30 относительно здоровых пациентов. Выявление полиморфизма G894T гена eNOS проводили с помощью полимеразной цепной реакции.*

*Результаты. По результатам молекулярно-генетического исследования выявлено распределение частот генотипов и аллелей полиморфного варианта G894T гена eNOS у исследуемых пациентов, а также в контрольной группе. При определении частоты полиморфного варианта G894T гена eNOS в общей выборке пациентов установлено, что носители генотипа 894GG гена eNOS – 81 (49,1%) человек, у 63 (38,2%) пациентов выявлен гетерозиготный генотип 894GT, и только у 21 (12,7%) пациента – генотип 894TT. Частота аллеля 894G составила 68,2%, аллеля 894T – 31,8%.*

*Выводы. Установлено статистически значимое преобладание гомозиготного генотипа 894TT полиморфного варианта G894T гена eNOS у пациентов 1 группы ( $p=0,01$ ), а также у пациентов 2 группы ( $p=0,03$ ) по сравнению с контрольной группой. Наличие генотипа 894TT полиморфизма G894T гена eNOS увеличивает риск развития ИБС в 1,5 раза (95% ДИ 1,29 – 1,74).*

**Ключевые слова:** генотип, ишемическая болезнь сердца, полиморфизм G894T гена eNOS, сахарный диабет 2 типа, эндотелиальная синтаза.

### Введение

Проблема ишемической болезни сердца (ИБС) остается приоритетной среди сердечно-сосудистых заболеваний [1]. Как правило, у пациентов с ИБС выявляется несколько заболеваний: артериальная гипертензия, ожирение, метаболические нарушения, сахарный диабет (СД) 2-го типа [2]. Прогноз течения СД, продолжительность жизни пациентов определяются скоростью развития и прогрессирования сердечно-сосудистых осложнений, которые развились на фоне СД. Риск развития ИБС при СД увеличивается в 2-4 раза по сравнению с популяцией без СД [3]. В основе ИБС лежат нарушения кровотока в коронарных артериях, вызванные атеросклерозом – комплексным патологическим процессом, развивающимся в стенках кровеносных сосудов. Развитие атеросклеротического повреждения сосудов обусловлено (в том числе) эндотелиальной дисфункцией [4].

При наличии СД атеросклеротические изменения развиваются в результате взаимодействия нескольких факторов риска: хроническая гипергликемия, дислипидемия, инсулинорезистентность и гиперинсулинемия, артериальная гипертензия, нарушения свертывания крови, нарушения функции эндотелия сосудов [5].

В настоящее время сформировалось представление о дисфункции эндотелия, под которой понимают кратковременное или стойкое нарушение свойств эндотелиоцитов, вызванное действием различных патогенных факторов. Оксид азота (NO) занимает особое место в механизмах ее возникновения, поэтому дисфункцию эндотелия рассматривают прежде всего как нарушение продукции и действия NO [6]. NO образуется в

организме путем трансформации гуанидинового фермента полузаменимой аминокислоты L-аргинина под воздействием ферментов семейства цитохром-P-450-подобных гемопропротеидов – NO-синтаз с участием никотинамидадениндинуклеотида [7].

Установлено, что NO играет ключевую роль в релаксации, снижении миграции и пролиферации гладкомышечных клеток, участвует в ингибировании адгезии тромбоцитов и лейкоцитов к эндотелию, а также окислению липопротеинов низкой плотности. Образование NO регулируется через изменение экспрессии или активности фермента эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) [8]. Активность eNOS регулируется кальцием и повышается после воздействия любого стимула, вызывающего увеличение его концентрации в клетке – ацетилхолина, брадикинина, тромбина, серотонина, а также физических факторов, включая поток крови и пульсовое давление [9].

Ген, кодирующий eNOS, находится в хромосоме 7 (q35-36) и состоит из 26 экзонов. Промотор гена eNOS содержит несколько доменов, то есть может регулироваться рядом факторов транскрипции [10]. Установлено несколько полиморфизмов этого гена, один из них – структурный полиморфизм экзона 7: замена гуанина тимидином в 894-й позиции (G894T), которая приводит к замене глутамина аспарагином в 298-й позиции (Glu298Asp) самого фермента [11].

Значимость проявления генетического полиморфизма и его вклад в патогенез мультифакторных заболеваний, в том числе ИБС и СД 2 типа, во многом определяется своеобразием разных популяций. Знание этнотерриториальной специ-

фичности в распределении аллельных вариантов генов-кандидатов важно для оценки риска развития заболевания и его распространённости в регионе [12].

**Цель исследования** – оценить частоту встречаемости генотипов и аллелей полиморфного варианта G894T гена eNOS у пациентов с наличием хронической ИБС в сочетании и без сочетания с СД 2-го типа, а также у практически здоровых лиц, проживающих на территории Гродненской области.

#### **Материал и методы**

Для достижения цели исследования обследованы 135 не состоящих в родстве пациентов, которые были разделены на 2 группы в зависимости от наличия СД 2-го типа. Набор пациентов осуществлялся на базе кардиологического отделения УЗ «Гродненский областной клинический кардиологический центр». Проводили изучение анамнеза, физикальное обследование, инструментальную и лабораторную диагностику. Группа 1 состояла из 65 пациентов, у которых хроническая ИБС была сопряжена с СД 2-го типа. В группу 2 вошли пациенты (n=70) с наличием хронической ИБС без нарушений углеводного обмена. Средний возраст пациентов групп 1 и 2 составил 59 (55; 61) и 59 (53; 64) лет, соответственно ( $p>0,05$ ). У пациентов с сочетанной патологией длительность СД 2-го типа на момент исследования составила в среднем 10 лет. С целью компенсации углеводного обмена пациенты группы 1 получали препараты группы сульфонилмочевины (глибенкламид, гликлазид), бигуаниды (метформин), инсулин. Значение гликированного гемоглобина составило 7,2%. Длительность ИБС у пациентов группы 1 составила 11 лет, у пациентов группы 2 – 10 лет ( $p>0,05$ ).

Критериями включения в исследование были пациенты мужского и женского пола в возрасте от 40 до 75 лет с верифицированным диагнозом хронической ИБС, при отсутствии сопутствующих заболеваний в фазе обострения. Критерии исключения: возраст пациентов до 40 лет и старше 75 лет, СД 1-го типа, декомпенсация СД 2-го типа, наличие у пациентов печёночной и почечной недостаточности, заболеваний щитовидной железы с нарушением функции, а также наличие тяжёлых сопутствующих соматических и инфекционных заболеваний в стадии декомпенсации патологического процесса, острого коронарного синдрома, отказ от участия в исследовании.

В контрольную группу вошли 30 человек, не родственных между собой, без клинических проявлений артериальной гипертензии, СД, ИБС, с отсутствием признаков гипертрофии левого желудочка (по ЭКГ). Набор пациентов контрольной группы осуществлен на базе УЗ «Поликлиника УВД» г. Гродно. Средний возраст пациентов составил 54 (52; 56) года.

Определение полиморфного варианта G894T гена eNOS осуществляли с помощью метода полимеразной цепной реакции с детекцией результатов в режиме реального времени с применением набора реагентов производства «Синтол»,

Россия. Выделение геномной ДНК человека проводилось набором реагентов «ДНК-экстран-1», производства «Синтол», Россия. Амплификацию ДНК вели на амплификаторе Rotor Gene-Q («Qiagen», Германия).

Для статистического анализа данных использовался пакет прикладных программ Microsoft Excel и STATISTICA 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США). На первоначальном этапе с помощью онлайн-калькулятора проведен расчет соответствия распределения аллелей и генотипов в выборке равновесию Харди-Вайнберга. Полученное при этом значение  $p>0,05$  говорит о выполнении условий данного равновесия и дает возможность интерпретировать результаты, полученные при обследовании данной выборки. Сравнительный анализ частот генотипов и аллелей у разных групп пациентов осуществлялся с помощью точного критерия Фишера. Количественные данные, распределение которых не было нормальным, приводились в виде медианы, 25 и 75% квартилей. Для оценки различий количественных признаков между двумя независимыми группами использовался критерий Манна-Уитни, а между несколькими независимыми группами – критерий Краскела-Уоллиса. Различия считались достоверными при значении  $p<0,05$ .

#### **Результаты и обсуждение**

По результатам молекулярно-генетического исследования полиморфного варианта G894T гена eNOS в общей выборке пациентов выявлены 3 вида генотипов: GG – гомозиготный диккий, GT – гетерозиготный, TT – гомозиготный мутантный. При определении частоты полиморфного варианта G894T гена eNOS в общей выборке пациентов установлено, что носители генотипа 894GG гена eNOS – 81 (49,1%) человек, у 63 (38,2%) пациентов выявлен гетерозиготный генотип 894GT и только у 21 (12,7%) пациента – генотип 894TT. Частота аллеля 894G составила 68,2%, аллеля 894T – 31,8%. Распределение частот генотипов полиморфизма G894T гена eNOS в общей выборке соответствует равновесию Харди-Вайнберга ( $p=0,123$ ).

Полиморфизм G894T гена eNOS одни исследователи связывают с низким уровнем NO и уменьшением реактивности сосудов, другие же – с дозозависимым снижением ферментативной активности eNOS и снижением продукции NO [14]. Гомозиготы TT характеризуются более низкой активностью eNOS по сравнению с генотипом GG [13, 14].

Согласно имеющимся литературным данным, распределение G и T аллелей в разных этнических группах неравномерно: лица, гомозиготные по аллелю T, чаще встречаются среди европейцев (10,73%), чем среди азиатов (0,48%,  $p=0,0006$ ), американских индейцев и испанцев [15, 16]. Результаты мета-анализа показали, что для лиц, гомозиготных по аллелю T, риск ИБС на 32% выше по сравнению с носителями других генотипов [15].

В таблице 1 представлено распределение

генотипов и аллелей полиморфного варианта G894T гена eNOS у пациентов с наличием хронической ИБС в сочетании и без сочетания с СД 2-го типа.

**Таблица 1.** – Распределение частот генотипов (n, %) и аллелей (%) полиморфизма G894T гена eNOS в исследуемых группах

Генотип, n (%)	Группа 1 (n=65)	Группа 2 (n=70)	Группа 3 (n=30)
GG	29 (44,6)	36 (51,4)	16 (53,3)
GT	25 (38,5)	24 (34,3)	14 (46,7)
TT	11 (16,9)	10 (14,3)	0
Аллель G, %	63,8	68,6	76,7
Аллель T, %	36,2	31,4	23,3

По результатам генотипирования установлено, что мутантный генотип 894TT выявлен у пациентов групп 1 и 2. В контрольной группе гомозиготный генотип 894TT не обнаружен.

В таблицах 2, 3 и 4 представлены результаты сравнительного анализа генотипов и аллелей между группами пациентов.

**Таблица 2.** – Результаты сравнительного анализа генотипов (n, %) и аллелей (%) полиморфизма G894T гена eNOS между пациентами групп 1 и 3

Генотип, n (%)	Группа 1 (n=65)	Группа 3 (n=30)	p
GG	29 (44,6)	16 (53,3)	p>0,05
GT	25 (38,5)	14 (46,7)	p>0,05
TT	11 (16,9)	0	p=0,01
Аллель G, %	63,8	76,7	p=0,09
Аллель T, %	36,2	23,3	p=0,09

**Таблица 3.** – Результаты сравнительного анализа генотипов (n, %) и аллелей (%) полиморфизма G894T гена eNOS между пациентами групп 2 и 3

Генотип, n (%)	Группа 2 (n=70)	3 группа (n=30)	p
GG	36 (51,4)	16 (53,3)	p>0,05
GT	24 (34,3)	14 (46,7)	p>0,05
TT	10 (14,3)	0	p=0,03
Аллель G, %	68,6	76,7	p>0,05
Аллель T, %	31,4	23,3	p>0,05

**Таблица 4.** – Результаты сравнительного анализа генотипов (n, %) и аллелей (%) полиморфизма G894T гена eNOS между пациентами групп 1 и 2

Генотип, n (%)	Группа 1 (n=65)	Группа 2 (n=70)	p
GG	29 (44,6)	36 (51,4)	p>0,05
GT	25 (38,5)	24 (34,3)	p>0,05
TT	11 (16,9)	10 (14,3)	p>0,05
Аллель G, %	63,8	68,6	p>0,05
Аллель T, %	36,2	31,4	p>0,05

При оценке относительного риска (RR) развития ИБС в зависимости от полиморфного варианта G894T гена eNOS установлено, что наличие генотипа 894TT увеличивает риск развития ИБС в 1,5 раза (95% ДИ 1,29 – 1,74).

Пациенты групп 1 и 2 были разделены на 2 подгруппы в зависимости от перенесенного инфаркта миокарда (ИМ) и выполненной реваскуляризации миокарда (стентирование коронарных артерий, коронарное шунтирование) (табл. 5).

**Таблица 5.** – ИМ и реваскуляризация у исследуемых пациентов

	Группа 1 (n=65)	Группа 2 (n=70)	p
ИМ+реваскуляризация (подгруппа А), n	42	41	p>0,05
Реваскуляризация (подгруппа В), n	17	16	p>0,05

В таблицах 6 и 7 приведены результаты распределения генотипов и аллелей полиморфизма G894T гена eNOS у пациентов с наличием хронической ИБС в сочетании и без сочетания с СД 2-го типа, которым была выполнена реваскуляризация миокарда и в анамнезе перенесен ИМ.

**Таблица 6.** – Распределение генотипов (n, %) и аллелей (%) у исследуемых пациентов с ИМ и реваскуляризацией

Генотип, n (%)	1А подгруппа (n=42)	2А подгруппа (n=41)	p
GG	17 (40,5)	19 (46,3)	p>0,05
GT	14 (33,3)	14 (34,2)	p>0,05
TT	11 (26,2)	8 (19,5)	p>0,05
Аллель G, %	57,1	63,4	p>0,05
Аллель T, %	42,9	36,6	p>0,05

**Таблица 7.** – Распределение генотипов (n, %) и аллелей (%) у исследуемых пациентов с реваскуляризацией

Генотип, n (%)	1В подгруппа (n=17)	2В подгруппа (n=16)	p
GG	9 (52,9)	12 (75)	p>0,05
GT	8 (47,1)	3 (18,8)	p>0,05
TT	0	1 (6,2)	p>0,05
Аллель G, %	76,5	84,4	p>0,05
Аллель T, %	23,5	15,6	p>0,05

Достоверных различий между пациентами подгрупп 1А и 2А, а также подгрупп 1В и 2В по распределению генотипов и аллелей полиморфизма G894T гена eNOS не получено.

Lembo G. и соав. в своем исследовании подтверждают роль G894T полиморфизма гена eNOS в развитии ССЗ в Италии [17]. Gardemann A. оценивал частоту встречаемости T аллели Glu298Asp (G894T) полиморфизма гена eNOS у

лиц молодого возраста. В его исследовании показано, что Т аллель увеличивает риск развития ИМ [18]. В мета-анализе, включавшем 23 исследования, было показано, что аллель Т полиморфного варианта G894T гена eNOS повышал риск развития ИБС более чем на 50% [19].

Имеются и противоречивые результаты исследований. Так, Karvonen и соавт. [20] установили, что Glu298Asp полиморфизм гена eNOS не является основным фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний, а G894T полиморфизм не влияет на развитие ИБС [21]. Такие же результаты получены и в турецкой популяции [22].

### Выводы

1. В результате исследования выявлено распределение частот генотипов и аллелей полиморфного варианта G894T гена eNOS у пациентов с наличием хронической ИБС в сочетании и

без сочетания с СД 2-го типа, а также у практически здоровых лиц, проживающих на территории Гродненского региона.

2. Установлено статистически значимое преобладание гомозиготного генотипа 894TT полиморфного варианта G894T гена eNOS у пациентов группы 1 (ИБС и СД 2-го типа) ( $p=0,01$ ), а также у пациентов группы 2 (ИБС) ( $p=0,03$ ) по сравнению с контрольной группой.

3. При выполнении сравнительного анализа генотипов и аллелей полиморфизма G894T гена eNOS у пациентов с наличием хронической ИБС, сочетанной с СД 2-го типа, а также у пациентов с наличием хронической ИБС без нарушений углеводного обмена достоверных различий не получено.

4. Наличие генотипа 894TT полиморфного варианта G894T гена eNOS ассоциировано с повышенным риском развития ИБС ( $RR=1,5$ ; 95% ДИ 1,29 – 1,74).

### Литература

1. Кенжаев, М. Л. Патогенетический механизм эндотелиальной дисфункции в зависимости от вида острого коронарного синдрома / М. Л. Кенжаев, У. Ш. Ганиев, Г. А. Холов // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. – № 4. – С. 53-55.
2. Роль полиморфных вариантов генов ядерного и митохондриального геномов в детерминации эндотипов ишемической болезни сердца / Н. П. Бабушкина [и др.] // Медицинская генетика. – 2014. – № 9. – С. 28-36.
3. Давыдчик, Э. В. Взаимосвязь гипергомоцистеинемии с ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом / Э. В. Давыдчик, В. А. Снежицкий, Л. В. Никонова // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2015. – № 1(49). – С. 9-13.
4. Генотип-786CC гена эндотелиальной NO-синтазы NOS3 как фактор неблагоприятного течения ишемической болезни сердца и риска повышенной агрегации тромбоцитов на фоне приема антиагрегантов / Э. Ф. Муслимова [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2017. – № 10(150). – С. 29-32.
5. Грачева, С. А. Распространенность сочетанного атеросклеротического поражения сосудов у больных сахарным диабетом / С. А. Грачева, И. И. Клефтортова, М. Ш. Шамхалова // Сахарный диабет. – 2012. – № 1. – С. 49-55.
6. Пронько, Т. П. Влияние небилета на дисфункцию эндотелия и кислородтранспортную функцию крови при артериальной гипертензии / Т. П. Пронько, В. В. Зинчук // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2009. – № 2. – С. 28-30.
7. Жадько, Д. Д. Полиморфизм гена эндотелиальной синтазы монооксида азота. Часть 1. Полиморфный вариант G894T (Glu298Asp, rs1799983) / Д. Д. Жадько, В. В. Зинчук // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2017. – № 1(57). – С. 5-12.
8. Березовская, Г. А. Рестеноз и тромбоз внутри стента: патогенетические механизмы развития и прогностические маркеры / Г. А. Березовская, В. И. Ганюков, М. А. Карпенко // Российский кардиологический журнал. – 2012. – № 6(98). – С. 91-95.
9. Behrendt, D. Endothelial function: from vascular biology to clinical applications / D. Behrendt, P. Ganz // Am. J. Cardiol. – 2002. – Vol. 90, № 10C. – P. L40-L48.
10. Клинико-прогностическое значение полиморфизма гена эндотелиальной NO-синтазы у больных с острыми коронарными синдромами / А. Н. Пархоменко [и др.] // Медицина неотложных состояний. – 2014. – № 3(58). – С. 45-54.
11. Влияние полиморфизма Glu298Asp гена эндотелиальной NO синтазы на развитие поражений органов-мишеней при установлении артериальной гипертензии в молодом возрасте / Т. Ю. Кузнецова [и др.] // Сибирский медицинский журнал. – 2010. – Т. 25, № 2-1. – С. 33-38.
12. Ассоциация генов ITGB3 и NOS3 с тяжестью течения ишемической болезни сердца при наличии и отсутствии сахарного диабета 2-го типа / Э. Ф. Муслимова [и др.] // Сахарный диабет. – 2016. – № 19(4). – С. 303-308. – doi: 10.14341/DM7875.
13. Biochemical consequences of the NOS3 Glu298Asp variation in human endothelium: altered caveolar localization and impaired response to shear / M. S. Joshi [et al.] // FASEB J. – 2007. – Vol. 21, № 11. – P. 2655-2663.
14. Functional characterization of Glu298Asp mutant human endothelial nitric oxide synthase purified from a yeast expression system / R. Golser [et al.] // Nitric Oxide. – 2003. – Vol. 8, № 1. – P. 7-14.
15. Endothelial nitric oxide synthase genotype and ischemic heart disease: meta-analysis of 26 studies involving 23028 subjects / J. P. Casas [et al.] // Circulation. – 2004. – Vol. 109, № 11. – P. 1359-1365.
16. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism in the Indian and Mestizo populations of Mexico / H. Rosas-Vargas [et al.] // Hum. Biol. – 2003. – Vol. 75, № 1. – P. 91-96.
17. A common variant of endothelial nitric oxide synthase (Glu298Asp) is an independent risk factor for carotid atherosclerosis / G. Lembo [et al.] // Stroke. – 2001. – Vol. 32, № 3. – P. 735-740.
18. The T allele of the missense Glu(298)Asp endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism is associated

- with coronary heart disease in younger individuals with high atherosclerotic risk profile / A. Gardemann [et al.] // *Atherosclerosis*. – 2002. – Vol. 160, № 1. – P. 167-175.
19. The endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary artery disease: a meta-analysis / J. Li [et al.] // *Cardiology*. – 2010. – Vol. 116, № 4. – P. 271-278. – doi: 10.1159/000316063.
  20. Endothelial nitric oxide synthase gene Glu298Asp polymorphism and blood pressure, left ventricular mass and carotid artery atherosclerosis in a population-based cohort / J. Karvonen [et al.] // *J. Intern. Med.* – 2002. – Vol. 251, № 2. – P. 102-110.
  21. Lack of evidence for association between endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and coronary artery disease in the Australian Caucasian population / B. Granath [et al.] // *J. Cardiovasc. Risk*. – 2001. – Vol. 8, № 4. – P. 235-241.
  22. Endothelial nitric oxide gene polymorphism (Glu298Asp) is not associated with coronary artery disease in Turkish population / O. Aras [et al.] // *Thromb. Haemost.* – 2002. – Vol. 87, № 2. – P. 347-349.
- ### References
1. Kenzhaev ML, Ganiev USh, Holov GA. Patogeneticheskiy mehanizm jendotelialnoj disfunkcii v zavisimosti ot vida ostrogo koronarnogo sindroma [Pathogenetic mechanism of endothelial dysfunction in patients with acute coronary syndrome depending on its type]. *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnyh i fundamentalnyh issledovaniy* [International journal of applied and basic research]. 2015;4-1:53-55. (Russian).
  2. Babushkina NP, Kucher AN, Buikin SV, Golubenko MV, Makeeva OA, Shipulin VM, Puzyrev VP. Rol polimorfnykh variantov genov jadernogo i mitochondrialnogo genomov v determinacii jendofenotipov ishemicheskoy bolezni serdca [Role of polymorphic variants of the genes of nuclear and mitochondrial genomes in determining ischemic heart disease endophenotypes]. *Medicinskaja genetika* [Medical Genetics]. 2014;13(9):28-36. (Russian).
  3. Davydchik EV, Snezhitskiy VA, Nikonova LV. Vzaimosvjaz gipergomocisteinemii s ishemicheskoy boleznju serdca i saharnym diabetom [Relationship of hyperhomocysteinemia with coronary heart disease and diabetes mellitus]. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Journal of the Grodno State Medical University]. 2015;1:9-13. (Russian).
  4. Muslimova EF, Rebrova TYu, Afanasiev SA, Sergienko TN, Repin AN. Genotip-786CC gena jendotelialnoj NO-sintazy NOS3 kak faktor neblagoprijatnogo techenija ishemicheskoy bolezni serdca i riska povyshennoj agregacii trombocitov na fone priema antiagregantov [Genotype-786CC of the endothelial nitric oxide synthase gene NOS3 as a factor of adverse coronary heart disease course and increased on-treatment platelet aggregation]. *Rossiyskiy kardiologicheskij zhurnal* [Russian Journal of Cardiology]. 2017;22(10):29-32. (Russian).
  5. Gracheva SA, Klefortova II, Shamkhalova MSh. Rasprostranennost sochetannogo ateroskleroticheskogo porazhenija sudov u bolnyh saharnym diabetom [Prevalence of combined atherosclerotic vascular lesions in patients with diabetes mellitus]. *Saharnyj diabet* [Diabetes mellitus]. 2012;1:49-55. (Russian).
  6. Pronko TP, Zinchuk VV. Vlijanie nebileta na disfunkciju jendotelija i kislorodtransportnuju funkciju krovi pri arterialnoj gipertenzii [Influence of nebilet on endothelium dysfunction and oxygen transport function of blood in arterial hypertension]. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Journal of the Grodno State Medical University]. 2009;2:28-30. (Russian).
  7. Zhadko DD, Zinchuk VV. Polimorfizm gena jendotelialnoj sintazy monoooksida azota. Chast 1. Polimorfnyj variant G894T (Glu298Asp, rs1799983) [Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism. Part 1. Polymorphic variant G894T (Glu298Asp, rs1799983)]. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Journal of the Grodno State Medical University]. 2017;1:5-12. (Russian).
  8. Berezovskaya GA, Ganyukov VI, Karpenko MA. Restenoz i tromboz vnutri stenta: patogeneticheskie mehanizmy razvitija i prognosticheskie markery [Restenosis and in-stent stenosis: pathogenetic mechanisms and prognostic markers]. *Rossiyskiy kardiologicheskij zhurnal* [Russian Journal of Cardiology]. 2012;17(6):91-95. (Russian).
  9. Behrendt D, Ganz P. Endothelial function: from vascular biology to clinical applications. *Am. J. Cardiol.* 2002;90(10C):L40-L48.
  10. Parkhomenko AN, Lutay YaM, Irkin OI, Kozhukhov SN, Skarzhevsky AA, Dosenko VYe, Moybenko AA. Kliniko-prognosticheskoe znachenie polimorfizma gena jendotelialnoj NO-sintetazy u bolnyh s ostrymi koronarnymi sindromami [Clinical and Prognostic Value of Endothelial NO-Synthetase Gene Polymorphism in Patients with Acute Coronary Syndromes]. *Medicina neotlozhnyh sostojanij* [Emergency Medicine]. 2014;3:45-54. (Russian).
  11. Kuznetsova TYu, Gavrilov DV, Samokhodskaya LM, Postnov AYu, Boitsov SA. Vlijanie polimorfizma Glu298Asp gena jendotelialnoj NO sintazy na razvitie porazhenij organov-mishenej pri ustanovlenii arterialnoj gipertenzii v molodom vozraste [Influence of polymorphism Glu298Asp of gene of endothelial no2synthase on the development of target organs damage in the establishment of arterial hypertension at an early age]. *Sibirskij medicinskij zhurnal (Tomsk)* [Siberian Medical Journal]. 2010;25(2-1):33-38. (Russian).
  12. Muslimova EF, Rebrova TY, Afanasiev SA, Sergienko TN, Repin AN. Associacija genov ITGB3 i NOS3 c tjazhestju techenija ishemicheskoy bolezni serdca pri nalichii i otsutstvii saharnogo diabeta 2-go tipa [The association of ITGB3 gene and NOS3 gene with the severity of coronary artery disease with and without type 2 diabetes]. *Saharnyj diabet* [Diabetes mellitus]. 2016;19(4):303-308. doi: 10.14341/DM7875. (Russian).
  13. Joshi MS, Mineo C, Shaul PW, Bauer JA. Biochemical consequences of the NOS3 Glu298Asp variation in human endothelium: altered caveolar localization and impaired response to shear. *FASEB J.* 2007;21(11):2655-2663.
  14. Golser R, Gorren AC, Mayer B, Schmidt K. Functional characterization of Glu298Asp mutant human endothelial nitric oxide synthase purified from a yeast expression system. *Nitric Oxide*. 2003;8(1):7-14.
  15. Casas JP, Bautista LE, Humphries SE, Hingorani AD. Endothelial nitric oxide synthase genotype and ischemic heart disease: meta-analysis of 26 studies involving 23028 subjects. *Circulation*. 2004;109(11):1359-1365.
  16. Rosas-Vargas H, Flores-Segura A, Guizada-Claire B, Vargas-Alarcyn G, Granados J, Salamanca F, Coral-Vazquez R. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism in the Indian and Mestizo populations of Mexico. *Hum. Biol.* 2003;75(1):91-96.
  17. Lembo G, De Luca N, Battagli C, Iovino G, Aretini A, Musicco M, Frati G, Pompeo F, Vecchione C, Trimarco B. A common variant of endothelial nitric oxide synthase

- (Glu298Asp) is an independent risk factor for carotid atherosclerosis. *Stroke*. 2001;32(3):735-740.
18. Gardemann A, Lohre J, Cayci S, Katz N, Tillmanns H, Haberbosch W. The T allele of the missense Glu(298)Asp endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism is associated with coronary heart disease in younger individuals with high atherosclerotic risk profile. *Atherosclerosis*. 2002;160(1):167-175.
  19. Li J, Wu X, Li X, Feng G, He L, Shi Y. The endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary artery disease: a meta-analysis. *Cardiology*. 2010;116(4):271-278. doi: 10.1159/000316063.
  20. Karvonen J, Kauma H, Kervinen K, Rantala M, Ikäheimo M, Päivänsalo M, Savolainen MJ, Kesäniemi YA. Endothelial nitric oxide synthase gene Glu298Asp polymorphism and blood pressure, left ventricular mass and carotid artery atherosclerosis in a population-based cohort. *J. Intern. Med*. 2002;251(2):102-110.
  21. Granath B, Taylor RR, van Bockxmeer FM, Mamotte CD. Lack of evidence for association between endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and coronary artery disease in the Australian Caucasian population. *J. Cardiovasc. Risk*. 2001;8(4):235-241.
  22. Aras O, Hanson NQ, Bakanay SM, Tsai MY, Gulec S. Endothelial nitric oxide gene polymorphism (Glu298Asp) is not associated with coronary artery disease in Turkish population. *Thromb. Haemost.* 2002;87(2):347-349.

## ENDOTHELIAL NITRIC OXIDE SYNTHASE GENE G894T POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH CORONARY HEART DISEASE AND DIABETES MELLITUS TYPE 2

Davydchyk E. V., Snezhitskiy V. A., Stepuro T. L., Nikonova L. V.

Educational Institution «Grodno State Medical University», Grodno, Belarus

*The aim of the study is to estimate the frequency of occurrence of genotypes and alleles of the G894T polymorphic variant of the endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene in patients with chronic coronary heart disease (CHD) and in healthy individuals residing in Grodno region.*

*Material and methods.* A total of 135 patients were examined. Among them there were 65 patients with CHD and diabetes mellitus (DM) type 2 and 70 patients with CHD without DM type 2. The control group included 30 otherwise healthy individuals. Identification of the eNOS gene G894T polymorphism was performed using polymerase chain reaction.

*Results.* Distribution of frequencies of genotypes and alleles of the G894T polymorphic variant of the eNOS gene was revealed in the examined patients as well as in the control group by the results of molecular genetic testing. When determining the frequency of the G894T polymorphic variant of the eNOS gene in the total sample of patients it was established that there were 81 (49.1%) carriers of the eNOS 894GG genotype, 63 (38.2%) carriers of the heterozygous 894GT genotype, and only 21 (12.7%) patients with the 894TT genotype. Frequency of the 894G allele was 68.2%, while frequency of the 894T allele was 31.8%.

*Conclusion.* Statistically significant prevalence of the homozygous 894TT genotype of the G894T polymorphic variant of the eNOS gene was established in the 1st group of patients ( $p=0.01$ ) as well as in the 2nd group ( $p=0.03$ ) in comparison with the control group. The presence of the 894TT genotype of the eNOS gene G894T polymorphism increases the risk of CHD by 1.5 times (95% CI 1.29 – 1.74).

**Keywords:** genotype, coronary heart disease, eNOS gene G894T polymorphism, diabetes mellitus type 2, endothelial synthase.

Поступила: 14.09.2018

Отрецензирована: 10.10.2018