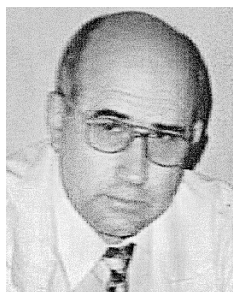


# Поліморфні варіанти T(-786)C і G894T гена ендотеліальної NO-синтази та стан вазодилатаційної функції ендотелію у хворих із хронічною серцевою недостатністю



Л.Г. Воронков<sup>1</sup>, Н.Г. Горovenко<sup>2</sup>, І.Д. Мазур<sup>1</sup>,  
І.А. Шкурат<sup>1</sup>, Л.С. Мхітарян<sup>1</sup>, Н.М. Орлова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ДУ «Національний науковий центр «Інститут кардіології імені М.Д. Стражеска» НАМН України», Київ

<sup>2</sup> ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України», Київ

**Мета роботи** — вивчити зв'язок стану ендотеліалізалежної вазодилатації (ЕЗВД) з поліморфними варіантами T(-786)C і G894T гена ендотеліальної NO-синтази (eNOS) у хворих із хронічною серцевою недостатністю (ХСН).

**Матеріали і методи.** Обстежено 96 пацієнтів із ХСН ішемічного генезу II–III функціонального класу (ФК) за NYHA та систолічною дисфункцією лівого шлуночка (ЛШ) — фракцією викиду (ФВ) ЛШ  $\leq 45\%$ , які отримували стандартну терапію. Стан ЕЗВД вивчали за допомогою проби з реактивною гіперемією. Відповідно до медіани приросту діаметра плечової артерії у фазу реактивної гіперемії ( $\Delta D$  6,4 %) всіх хворих розподілили на дві групи: групу А з  $\Delta D$  менше 6,4 % та групу Б з  $\Delta D$  понад 6,4 %. Альтельні поліморфізми T(-786)C та G894T визначали за допомогою полімеразної ланцюгової реакції. Для вивчення показників оксидантного стресу — дієнових кон'югат (ДК) і маленового діальдегіду (МДА), антиоксидантного захисту — активності супероксиддисмутази (СОД) та глутатіон-редуктази й активності ангіотензинперетворювального ферменту (АПФ) в плазмі крові застосовували спектрофотометричний та спектрофлуориметричний методи.

**Результати та обговорення.** ФК за NYHA у гомозигот CC поліморфізму T(-786)C становив  $2,9 \pm 1,1$ , у гетерозигот TC —  $2,7 \pm 0,8$ , у гомозигот TT —  $2,7 \pm 1,0$ , під час порівняння груп вірогідності не помічено ( $p > 0,05$ ). ФВ ЛШ була відповідно 38,0 [30,0; 44,0] %, 37,0 [28,0; 43,5] % та 33,0 [25,0; 37,0] % ( $p > 0,05$ ). У групі А переважали носії генотипів TC та CC поліморфізму T(-786)C, у групі Б — носії генотипу TT ( $p = 0,038$ ). Медіана  $\Delta D$  у носіїв генотипу TT становила 7,4 [5,1; 8,6] %, у гетерозигот TC — 6,9 [4,5; 8,7] %, тоді як у носіїв генотипу CC — 4,1 [2,3; 6,0] %, що вірогідно менше порівняно з носіями генотипів TT ( $p = 0,011$ ) та TC ( $p = 0,012$ ). Вміст ДК у носіїв генотипу CC був 1,8 [1,5; 2,5] ум. од./мл, у носіїв TC — 1,8 [1,0; 2,2] ум. од./мл, у TT — 1,8 [1,2; 2,8] ум. од./мл ( $p > 0,05$ ); МДА — відповідно 9,4 [8,6; 10,1] мкмоль/мл, 9,4 [7,8; 10,1] мкмоль/мл та 9,4 [8,6; 11,5] мкмоль/мл ( $p > 0,05$ ); рівень СОД — відповідно 2143,0 [1667,0; 2500,0] од./л, 2282,0 [1505,3; 2557,0] од./л та 2075,0 [1563,0; 2480,5] од./л ( $p > 0,05$ ); рівень активності глутатіон-редуктази — відповідно 17,3 [13,3; 30,0] од./л, 17,4 [15,4; 24,1] од./л та 19,4 [15,4; 22,9] од./л ( $p > 0,05$ ). Активність АПФ у плазмі хворих із генотипом CC була 9,4 [7,7; 11,1] нмоль/(мл·хв), з TC — 9,2 [8,0; 10,4] нмоль/(мл·хв), з TT — 9,8 [8,0; 12,1] нмоль/(мл·хв) ( $p > 0,05$ ). ФК за NYHA у гомозигот TT поліморфізму G894T становив  $2,7 \pm 1,1$ , у гетерозигот GT —  $2,8 \pm 0,9$ , у гомозигот GG —  $2,6 \pm 1,2$  ( $p > 0,05$ ). ФВ ЛШ була відповідно 33,0 [27,0; 38,0] %, 32,0 [30,0; 44,0] % та 34,0 [25,8; 40,0] % ( $p > 0,05$ ). У групі А переважали хворі з генотипами GT та TT поліморфізму G894T гена eNOS, у групі Б — носії генотипу GG ( $p = 0,041$ ). Вміст ДК у носіїв генотипу TT був 1,8 [1,4; 3,7] ум. од./мл, у носіїв GT — 1,6 [0,8; 2,5] ум. од./мл, у GG — 1,9 [1,2; 2,5] ум. од./мл ( $p > 0,05$ ); МДА — відповідно 10,1 [8,8; 15,0] мкмоль/мл, 9,4 [8,6; 9,4] мкмоль/мл та 9,4 [8,6; 10,9] мкмоль/мл ( $p > 0,05$ ); рівень СОД — відповідно 2276,0 [1776,3; 2467,0] од./л, 2118,0 [1429,0; 2688,5] од./л та 2059,0 [1563,0; 2500,0] од./л ( $p > 0,05$ ); рівень

Стаття надійшла до редакції 5 листопада 2012 р.

Воронков Леонід Георгійович, д. мед. н., проф., керівник відділу  
03151, м. Київ, вул. Народного ополчення, 5. Тел. (44) 275-53-87

активності глутатіон-редуктази — відповідно 22,2 [16,2; 27,3] од./л, 17,4 [14,5; 22,7] од./л та 18,8 [15,4; 23,2] од./л ( $p > 0,05$ ). Активність АПФ у плазмі у хворих із генотипом ТТ була 9,4 [7,1; 11,0] нмоль/(мл·хв), GT — 9,6 [8,3; 11,8] нмоль/(мл·хв), GG — 9,0 [7,8; 11,1] нмоль/(мл·хв) ( $p > 0,05$ ).

**Висновки.** Серед пацієнтів із ХСН ішемічного генезу та систолічною дисфункцією ЛШ частота генотипів поліморфізму промотора гена eNOS становила: ТТ — 41,7 %, ТС — 42,7 %, рідкісний генотип СС був у 15,6 %; частота генотипів поліморфізму сьомого екзону G894T гена eNOS: GG — 56,3 %, GT — 31,2 %, рідкісний генотип ТТ мали 12,5 % хворих. У хворих з менш поширеним генотипом СС поліморфізму T(-786)C промотора гена eNOS спостерігали вірогідно гіршу ендотелійзалежну вазодилаторну відповідь порівняно з гетерозиготами ТС та гомозиготами ТТ. Гірші значення потокозалежної вазодилаторної відповіді ( $\Delta D < 6,2$  %) асоціюються з наявністю в генотипі алеля Т поліморфізму G894T гена eNOS. Різниця потокозалежної вазодилаторної відповіді у пацієнтів з різними генотипами поліморфних варіантів гена eNOS не залежить від класу за NYHA, величини ФВ ЛШ, показників системного оксидантного стресу, підтримувальних доз інгібітора АПФ та петльового діуретика.

**Ключові слова:** ендотелійзалежна вазодилатація, поліморфізм T(-786)C промотора, поліморфізм G894T сьомого екзону, ген ендотеліальної NO-синтази, хронічна серцева недостатність.

**Х**ронічна серцева недостатність (ХСН) асоціюється з ендотеліальною дисфункцією, для якої характерні зниження вазодилаторного резерву, збільшення синтезу протромботичних та прозапальних чинників, судинне ремоделювання [2, 19, 35]. До провідних патогенетичних чинників ендотеліальної дисфункції при ХСН належать зменшення біодоступності азоту оксиду (NO) та підвищення рівня вазоконстриктора ендотеліну-1 [2].

Один із механізмів зниження біодоступності NO при ХСН — зменшення його синтезу внаслідок пригнічення експресії ендотеліальної NO-синтази (eNOS), чинниками якої, зокрема, є зменшення напруги зсуву (гідродинамічна дія потоку крові на клітини ендотелію) внаслідок зниження швидкості системного кровоплину [11, 27], прямого впливу прозапальних цитокінів (фактора некрозу пухлин альфа) [19] і альдостерону [29]. Інший доведений чинник зниження біодоступності NO при ХСН — характерна для згаданого синдрому активізація ренін-ангіотензинової системи, за якої, з одного боку, внаслідок підвищеної активності ангіотензинперетворювального ферменту (АПФ) зменшується індукване брадикініном утворення NO, а з другого — інтенсифікується хімічна інактивація останнього вільними радикалами кисню, продукція яких стимулюється через активацію НАДФН-оксидаз ангіотензином II [1, 6, 20, 34].

Відомо, що навіть порівнювані за початковими клініко-гемодинамічними характеристиками хворі з ХСН демонструють варіабельність як ендотелійзалежної вазодилаторної відповіді, так і різну тривалість життя [3, 16]. Зокрема, продемонстровано, що низькі показники потокозалежної вазодилатації є предиктором неживання хворих із ХСН у наступні 12 та 60 міс незалежно від початкового функціонального класу (ФК) за NYHA та величини фракції викиду (ФВ) лівого шлуночка (ЛШ) [3, 16]. Тому вбачається актуальним вивчення генетичних чинників, зокрема поліморфних варіантів гена eNOS, як потенційної детермінанти функціонального стану ендотелію при ХСН.

**Мета роботи** — вивчити зв'язок стану ендотелійзалежної вазодилатації з поліморфними варі-

антами T(-786)C і G894T гена ендотеліальної NO-синтази (eNOS) у хворих із хронічною серцевою недостатністю.

Ген, що кодує eNOS, розташований у сьомій хромосомі (7q35–36) і складається з 26 екзонів та 25 інтронів. На сьогодні описано 18 поліморфних варіантів гена eNOS. Ми дослідили поліморфізм промоторної зони (T(-786)C) та сьомого екзону (G894T) гена eNOS, які вважають основними чинниками ризику й модифікаторами перебігу серцево-судинних захворювань [31]. Функціональне значення цих поліморфних варіантів на сьогодні цілком не з'ясоване. Є дані, що поліморфізм промотора гена eNOS впливає на транскрипцію мРНК, а зміни в екзоні — на структуру та активність ферменту. Так, встановлено, що у разі заміни азотистої основи тиміну (Т) на цитозин (С) у -786 положенні промотора гена eNOS знижується як кількість мРНК, що його кодує, так і експресія білкової молекули eNOS [15]. Разом із тим під час дослідження поліморфізму сьомого екзону, який характеризується заміною азотистої основи гуанін (G) на тимін (Т), що призводить до заміни глутамінової амінокислоти на аспарагінову у положенні 298 білка eNOS, такої різниці не спостерігали [15]. А втім, є дані, що в останньому випадку білок eNOS із заміненою амінокислотою нестабільний, легко гідролізується на два фрагменти саме в тому місці, де відбувається її заміна, це може, врешті-решт, знижувати активність ферменту та впливати на синтез NO [24].

## Матеріали і методи

Обстежено 96 пацієнтів з ХСН ішемічного генезу II–III ФК за NYHA із систолічною дисфункцією ЛШ (ФВ ЛШ  $\leq 45$  %), які перебували на стаціонарному лікуванні у відділі серцевої недостатності ННЦ «Інститут кардіології ім. акад. М.Д. Стражеска» НАМН України. ФВ ЛШ становила 30,4 [23,4; 39,7] % (дані представлено у вигляді медіани (Me), нижнього (НК) та верхнього (ВК) квантилів). Загальну клінічну характеристику хворих представлено у табл. 1. На момент введення всі

Т а б л и ц я 1

Клінічна характеристика хворих	
Показник	Значення
Вік, роки (Ме [НК; ВК])	63,5 [55,0; 71,0]
Жінки	30 (31,3 %)
ФК за NYHA	2,6 ± 1,1
Супутня артеріальна гіпертензія	89 (92,7 %)
Перенесений інфаркт міокарда	28 (29,2 %)
Фібриляція передсердь	69 (71,9 %)
Тривалість симптомів ХСН, роки (Ме [НК; ВК])	2,0 [1,0; 5,0]
Частота серцевих скорочень за 1 хв (Ме [НК; ВК])	85,0 [72; 94]
Систолічний артеріальний тиск, мм рт. ст. (Ме [НК; ВК])	120,0 [110,5; 130,0]
Діастолічний артеріальний тиск, мм рт. ст. (Ме [НК; ВК])	80,0 [70,0; 80,0]

хворі приймали інгібітор АПФ (ІАПФ) та діуретик, більшість із них (83,5 %) отримували бісопролол у мінімальній дозі — перший етап титрування, відповідно до чинних рекомендацій з лікування ХСН [25].

Клінічний діагноз встановлювали на підставі результатів клініко-інструментального обстеження, загальних клінічних досліджень, електрокардіографії, ехокардіографії, рентгенологічного дослідження органів грудної порожнини.

У групу дослідження не вводили осіб, які на момент обстеження мали статус курця, вік понад 75 років, набуті та/або природжені вади серця, рестриктивну чи дилатаційну кардіоміопатію, інфаркт міокарда, мозковий інсульт або тромбоемболію гілок легеневої артерії протягом останніх 6 міс, запальні ураження серця, цукровий діабет першого та другого типів, виражену ниркову та печінкову недостатність, бронхіальну астму, хронічне обструктивне захворювання легень III–IV стадії, онкологічні та інфекційні хвороби. Хворих, які приймали небіволол або карведилол, не брали в дослідження, оскільки позитивний ефект на вазодилатаційну функцію ендотелію зазначених β-адреноблокаторів III покоління міг вплинути на результати дослідження.

Функціональний стан ендотелію вивчали за допомогою проби з реактивною гіперемією, використовували ультразвукову систему Siemens Sonoline Omnia (Німеччина) з лінійним датчиком, що вимірює в частотному діапазоні 7 МГц. Дослідження починали після десятихвилинного перебування пацієнта в горизонтальному положенні. У режимі двомірного ультразвукового сканування фіксували зміни діаметра плечової артерії у відповідь на збільшення потоку крові під час проби з реактивною гіперемією. Діаметр плечової артерії вимірю-

вали в стані спокою, потім навколо плеча накладали манжету сфігмоманометра і накачували її до 26,6 кПа. Тривалість фази оклюзії становила 5 хв. Через 90 с після зняття манжети (декомпресії) визначали діаметр плечової артерії за лінійним методом, який полягає у вимірюванні діаметра артерії з використанням двох точок, установлених ультразвуковим курсором: однієї — на межі адвентиція — медіа передньої стінки артерії, другої — на межі медіа — адвентиція задньої стінки. Ендотелій-залежну вазодилатацію (ЕЗВД) — ΔD — як характеристику ендотелійзалежної відповіді розраховували у відсотках до початкового діаметра шляхом визначення відношення зміни діаметра плечової артерії в фазу реактивної гіперемії до діаметра артерії в стані спокою [12]. Нормальною реакцією плечової артерії прийнято вважати її дилатацію на тлі реактивної гіперемії понад 10 % [11].

Як показники оксидантного стресу досліджували проміжні (дієнові кон'югати (ДК)) та кінцеві (малоновий діальдегід — МДА) продукти перекисного окиснення ліпідів за даними методу спектрофотометрії [7, 8]. Вивчали активність антиоксидантних ферментів — супероксиддисмутази (СОД) та глутатіон-редуктази — методами спектрофлуориметрії й спектрофотометрії [7, 8]. Активність АПФ у плазмі крові визначали спектрофлуориметричним методом [17].

Для генотипування венозну кров набирали в стерильних умовах в моновети об'ємом 2,7 мл з калієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти (антикоагулянт), заморожували та зберігали при температурі  $-20^{\circ}\text{C}$ . Молекулярно-генетичні дослідження проводили з виділенням ДНК і застосуванням полімеразної ланцюгової реакції та аналізом довжини рестрикційних фрагментів.

Для визначення T(–786)C поліморфізму промотора гена eNOS використовували методику S. Nasgeen та співавторів з модифікаціями [28]. Альтернативний поліморфізм G894T сьомого екзону гена eNOS визначали із використанням методу, описаного в роботі Y. Miyamoto та співавторів [26].

Статистичний аналіз результатів дослідження проводили за допомогою статистичного пакета програм SPSS Statistics 17.0, використовували однофакторний дисперсійний аналіз із подальшим порівнянням груп за допомогою апостеріорного критерію Тюки. Кількісні змінні представлено у вигляді медіани, нижнього та верхнього квартилів; нормальність їх розподілу перевіряли за допомогою критерію Шапіро — Уїлка (рівень значущості 0,01). Категоріальні змінні наведено у вигляді кількості та частки у відсотках. Для попарного порівняння груп за категоріальними змінними застосовано критерій  $\chi^2$  Пірсона з поправкою Йетса, у разі невиконання передумов зазначеного критерію застосовували точний критерій Фішера. За рівень значущості було взято 0,05.

## Результати та обговорення

Всіх обстежених хворих за поліморфізмом T(-786)C гена eNOS розподілили так: генотип TT мали 41,7 % (n = 40), TC – 42,7 % (n = 41), так званий рідкісний генотип CC виявлено у 15 (15,6 %) осіб. За даними В.Є. Досенка та співавторів, серед 83 здорових осіб української популяції генотип CC реєстрували у 6,0 %, гетерозигот було 45,8 %, генотип TT мали 48,2 % [5]. Таким чином, генотип CC виявляли у хворих із ХСН в 2,5 рази частіше порівняно зі здоровими. С. Vesoli та співавтори серед 140 хворих італійської популяції з ХСН, спричиною дилатаційною кардіоміопатією або ішемічною хворобою серця (ІХС), генотип CC виявили у 12,5 % [32]. Серед донорів канадської популяції (n = 705) генотип CC реєстрували у 15 %, гетерозиготи становили 46,1 %, генотип TT мали 38,9 % [22]. У японській популяції (n = 3918) рідкісний генотип CC виявлено лише у 1,1 % здорових осіб [23]. Очевидно, що частота рідкісного генотипу CC у здорових осіб значно варіює в різних популяціях і у хворих із ХСН вивчена мало.

Під час дослідження розподілу частот варіантів генотипів за поліморфізмом G894T сьомого екзону гена eNOS виявили, що генотип GG мали 56,3 % (n = 54) обстежених, гетерозигот GT було 31,2 % (n = 30), так званий рідкісний генотип TT реєстрували у 12,5 % осіб (n = 12). Серед здорових осіб української популяції (n = 83) генотип GG мали 29 %, гетерозигот було 67 %, генотип TT був у 4 % [4]. Таким чином, в Україні генотип TT втричі частіше реєструють у хворих із ХСН, тоді як гетерозигот було вдвічі більше серед здорових. Т.Ю. Кузнецова та співавтори досліджували згаданий поліморфізм у здорових осіб (n = 102) російської популяції та хворих (n = 272) на гіпертонічну хворобу (ГХ). Розподіл генотипів у здорових був такий: GG – 53,0 %, GT – 36,0 %, TT – 11 %, у хворих на ГХ – відповідно 58,8; 32,3 та 8,9 %; тобто генотип TT частіше реєстрували у контрольній групі [6]. За даними G.P. Rossi, частота генотипу TT у хворих на ГХ становила 9 % та не відрізнялася від показника здорових [30].

Отже, частота розподілу генотипів за поліморфними варіантами у сьомому екзоні гена eNOS істотно відрізняється в досліджуваних популяціях, більше того, одна група дослідників пов'язує ризик виникнення ІХС [9] та негативні впливи на перебіг ГХ з наявністю алеля G [6], інша – з рідкісним алелем T [13, 24].

Під час порівняння основних клініко-функціональних показників, таких як вік, ФК за NYHA, рівні систолічного і діастолічного артеріального тиску, частота серцевих скорочень, частота фібриляції передсердь, величина ФВ ЛШ, тривалість симптомів ХСН, між групами пацієнтів з генотипами TT, TC та CC поліморфізму промотора T(-786)C гена eNOS різниці не виявлено (p > 0,05).

Також під час аналізу цих показників у хворих з генотипами GG, GT, та TT поліморфізму сьомого екзону G894T гена eNOS різниці не помічено, для всіх значень p > 0,05.

Ми аналізували ЕЗВД залежно від генотипів поліморфних варіантів гена eNOS. Відповідно до медіани приросту діаметра плечової артерії у фазу реактивної гіперемії ( $\Delta D$ ), яка становила 6,4 %, всіх хворих розподілено на дві групи: А (n = 50) з  $\Delta D$  менше 6,4 % та Б (n = 46) з  $\Delta D$  понад 6,4 % (табл. 2).

З'ясувалося, що в групі А вірогідно переважали носії алеля С (генотипи TC та CC) поліморфізму промотора T(-786)C порівняно з гомозиготами за алелем Т (p = 0,038). У групі Б помітили обернене співвідношення: носіїв генотипу TT було вірогідно більше, ніж хворих з алелем С (p = 0,038).

Хворих із генотипами GT та TT поліморфізму G894T сьомого екзону в групі А було вірогідно більше, ніж гомозигот GG (p = 0,041), тоді як у групі Б навпаки, більшість становили гомозиготи GG, а хворих із алелем Т в гомо- чи гетерозиготному стані було вірогідно менше (p = 0,041).

Медіана приросту діаметра плечової артерії у фазу реактивної гіперемії у хворих із генотипом TT поліморфного варіанта T(-786)C становила 7,4 [5,1; 8,6] %, у гетерозигот – 6,9 [4,5; 8,7] %, тоді як у осіб з генотипом CC згаданий показник дорівнював 4,1 [2,3; 6,0] %, що вірогідно менше порівняно з носіями генотипів TT (p = 0,011) та TC (p = 0,012).

G.P. Rossi та співавтори вивчали ЕЗВД залежно від поліморфізму промотора та сьомого екзону гена eNOS у хворих на ГХ (n = 137). Виявлено, що погіршення ЕЗВД у хворих асоціювалося з наявністю алеля С промотора і не було пов'язане з поліморфізмом G894T гена eNOS [30]. G. Dell'Omo та співавтори у процесі вивчення інсерційно-делеційного поліморфізму гена АПФ та T(-786)C і

Таблиця 2

**Частота генотипів поліморфних варіантів T(-786)C та G894T гена eNOS у пацієнтів з ХСН залежно від медіани приросту діаметра плечової артерії у фазу реактивної гіперемії**

Генотип	Група А (n = 50)	Група Б (n = 46)	p
<b>eNOS T(-786)C</b>			
TT	15 (30,0 %)	25 (54,3 %)	0,038
TC + CC	35 (70,0 %)	21 (45,7 %)	0,038
<b>eNOS G894T</b>			
GG	23 (46,0 %)	31 (67,4 %)	0,041
GT + TT	27 (54,0 %)	15 (32,6 %)	0,041

G894T поліморфних варіантів гена eNOS у 235 чоловіків з ГХ та у 94 здорових осіб італійської популяції зазначили, що жоден із поліморфізмів не впливав на ЕЗВД за даними проби з ацетилхоліном та на ендотелійнезалежну вазодилатацію за даними проби з натрію нітропрусидом [13]. M.S. Joshi та співавтори вивчали згадані поліморфні варіанти гена eNOS у хворих на ІХС. На відміну від попередніх робіт ними встановлено, що ЕЗВД є гіршою за наявності одного або двох рідкісних алелів хоча б одного із поліморфних варіантів гена eNOS. Дослідники висунули гіпотезу, що наявність рідкісних алелів є чинником ризику ІХС [24].

У нашому дослідженні у хворих із генотипом GG поліморфізму G894T  $\Delta D$  становила 7,1 [4,3; 9,2] %, у гетерозигот GT – 6,2 [4,9; 8,1] %, найменшою була у хворих з рідкісним генотипом TT – 4,2 [2,5; 5,3] %, хоча й не досягала статистичної ймовірності порівняно із гомозиготами GG ( $p = 0,077$ ) та гетерозиготами ( $p = 0,171$ ). Про негативний вплив алеля T на стан вазодилатаційної функції ендотелію може свідчити переважання його носіїв серед хворих з найгіршою ЕЗВД ( $\Delta D < 6,4$  %) (див. табл. 2).

У літературі описано кілька досліджень впливу поліморфізму G894T сьомого екзону на ЕЗВД. Так, у згаданому вище дослідженні M.S. Joshi та співавторів [24] гіршу ЕЗВД спостерігали у носіїв алеля T поліморфізму G894T гена eNOS. Поряд із цим А.Т. Тепляков та співавтори виявили гіршу ЕЗВД у пробі з реактивною гіперемією серед хворих на ІХС із ХСН ( $n = 165$ ) носіїв генотипу GG [9]. Таким чином, дані про вплив поліморфізму сьомого екзону на ЕЗВД суперечливі. У нашому дослідженні помічено тенденцію до її погіршення у носіїв алеля T.

Ми також аналізували стан ЕЗВД у хворих з поєднанням певних поліморфних варіантів гена

eNOS. Показник  $\Delta D$  у гомозигот з рідкіснішими алелями поліморфізму T(-786)C і G894T – CC/TT ( $n = 7$ ) становив 4,0 [2,1; 4,7] %, тоді як у носіїв комбінації гомозиготного стану поширеніших алелів гена eNOS – TT/GG ( $n = 27$ ) його значення було майже вдвічі вищим – 7,6 [3,9; 10,2] %;  $p = 0,017$ .

Оскільки виразність системного оксидантного стресу і відповідно активність антиоксидантних систем можуть впливати на ЕЗВД, ми проаналізували показники перекисного окиснення (МДА та ДК) і активність ензимів антиоксидантного захисту (СОД та глутатіон-редуктази) у хворих з різними генотипами двох поліморфних варіантів. Уміст МДА у хворих з генотипами TT, TC та CC поліморфізму промотора T(-786)C був вищим за нормативні значення, проте між групами різниці не спостерігали (табл. 3).

Вміст ДК у зазначених вище групах наближався до верхньої межі норми, різниці між групами не виявлено. Показники активності глутатіон-редуктази у носіїв алеля C були нижчими за нормативне значення, проте порівняно з носіями генотипу TT, у яких цей показник був у межах норми, вірогідної різниці не помічено. Активність СОД була в межах норми і не відрізнялася у групах з різними генотипами поліморфізму промотора T(-786)C. Подібні дані отримано під час аналізу згаданих показників у хворих із генотипами GG, GT та TT поліморфізму G894T сьомого екзону гена eNOS (табл. 4).

Практично у всіх хворих спостерігали виразне збільшення активності АПФ у плазмі, але залежності від поліморфних варіантів гена eNOS не виявлено (див. табл. 3, 4). Лікування ІАПФ (прямо) та діуретиками (опосередковано, через активізацію ренін-ангіотензинової системи) могло вплинути на рівень активності АПФ, тому ми аналізу-

Т а б л и ц я 3

**ФК за NYHA, ФВ ЛШ, показники системного оксидантного стресу і антиоксидантного захисту та лікування ІАПФ і діуретиком хворих з різними генотипами поліморфізму промотора T(-786)C гена eNOS**

Показник	TT	TC	CC	Норма
ФК за NYHA	2,7 ± 1,0	2,7 ± 0,8	2,9 ± 1,1	–
ФВ ЛШ, %	33,0 [25,0; 37,0]	37,0 [28,0; 43,5]	38,0 [30; 44,0]	55–60
МДА, мкмоль/мл	9,4 [8,6; 11,5]	9,4 [7,8; 10,1]	9,4 [8,6; 10,1]	7,8–9,2
ДК, ум. од./мл	1,8 [1,2; 2,8]	1,8 [1,0; 2,2]	1,8 [1,5; 2,5]	1,1–2,1
Активність СОД, од./л	2075 [1563; 2481]	2282 [1505; 2557]	2143 [1667; 2500]	1885–2391
Активність глутатіон-редуктази	19,4 [15,4; 22,9]	17,4 [15,4; 24,1]	17,3 [13,3; 30,0]	19,0–22,6
Активність АПФ, нмоль/(мл · хв)	9,8 [8,0; 12,1]	9,2 [8,0; 10,4]	9,4 [7,7; 11,1]	5,2–6,8
Відсоток цільової дози ІАПФ	12,5 [0; 25,0]	12,5 [0; 50,0]	16,0 [12,5; 50,0]	–
Добова доза петльового діуретика, мг/добу	40,0 [30,0; 80,0]	60,0 [37,5; 80,0]	40,0 [32,5; 70,0]	–
Тижнева доза петльового діуретика, мг/тиж	280,0 [150,0; 450,0]	300,0 [210,0; 560,0]	280,0 [105,0; 350,0]	–

Різниця між групами TT, TC та CC статистично незначуща за всіма показниками ( $p > 0,05$ ).

Т а б л и ц я 4

**ФК за НУНА, ФВ ЛШ, показники системного оксидантного стресу і антиоксидантного захисту та лікування ІАПФ і діуретиком хворих із різними генотипами поліморфізму G894T сьомого екзону гена eNOS**

Показник	GG	GT	TT	Норма
ФК за НУНА	2,6 ± 1,2	2,8 ± 0,9	2,7 ± 1,1	—
ФВ ЛШ, %	34,0 [25,8; 40,0]	32,0 [30,0; 44,0]	33,0 [27,0; 38,0]	55–60
МДА, мкмоль/мл	9,4 [8,6; 10,9]	9,4 [8,6; 9,4]	10,1 [8,8; 15,0]	7,8–9,2
ДК, ум. од./мл	1,9 [1,2; 2,5]	1,6 [0,8; 2,5]	1,8 [1,4; 3,7]	1,1–2,1
Активність СОД, од./л	2059 [1563; 2500]	2118 [1429; 2689]	2276 [1776; 2467]	1885–2391
Активність глутатіон-редуктази	18,8 [15,4; 23,2]	17,4 [14,5; 22,7]	22,2 [16,2; 27,3]	19,0–22,6
Активність АПФ, нмоль/(мл·хв)	9,0 [7,8; 11,1]	9,6 [8,3; 11,8]	9,4 [7,1; 11,0]	5,2–6,8
Відсоток цільової дози ІАПФ	12,5 [0; 25,0]	25,0 [9,4; 50,0]	12,5 [12,5; 85,0]	—
Добова доза петльового діуретика, мг/добу	40,0 [40,0; 80,0]	40,0 [30,0; 80,0]	40,0 [40; 800]	—
Тижнева доза петльового діуретика, мг/тиж	280,0 [250,0; 455,0]	280,0 [140,0; 500,0]	280,0 [280; 560,0]	—

Різниця між групами GG, GT та TT статистично незначуща за всіма показниками ( $p > 0,05$ ).

вали відсоток цільової дози ІАПФ, що приймали хворі на час обстеження, та дозу петльового діуретика. Різниця за цими показниками між відповідними групами хворих за досліджуваними поліморфними варіантами гена eNOS не помічено.

Позаяк групи були порівнювані за середнім ФК, ФВ ЛШ, показниками системного оксидантного стресу, антиоксидантного захисту та активністю плазмової АПФ (здатні впливати на стан ЕЗВД), можемо висловити обґрунтоване припущення, що в реалізації зниження останньої у хворих із ХСН можуть відігравати роль поліморфні варіанти гена eNOS.

Практичне значення результатів має бути з'ясовано у процесі наступного етапу роботи, а саме дослідження можливостей фармакотерапевтичної корекції ендотеліальної дисфункції у хворих із ХСН з урахуванням генотипів поліморфізмів гена eNOS.

## Висновки

Серед пацієнтів із хронічною серцевою недостатністю ішемічного генезу та систолічною дис-

функцією лівого шлуночка частота генотипів поліморфізму промотора гена eNOS становила: TT — 41,7 %, TC — 42,7 %, рідкісний генотип CC був у 15,6 %; частота генотипів поліморфізму сьомого екзону G894T гена eNOS: GG — 56,3 %, GT — 31,2 %, рідкісний генотип TT мали 12,5 % хворих.

У хворих із менш поширеним генотипом CC поліморфізму T(–786)C промотора гена eNOS спостерігали вірогідно гіршу ендотеліальну вазодилататорну відповідь порівняно з гетерозиготами TC та гомозиготами TT.

Гірші значення потокозалежної вазодилататорної відповіді ( $\Delta D < 6,2$  %) асоціюються з наявністю в генотипі алеля T поліморфізму G894T гена eNOS.

Різниця потокозалежної вазодилататорної відповіді у пацієнтів із різними генотипами поліморфних варіантів гена eNOS не залежить від функціонального класу за НУНА, фракції викиду лівого шлуночка, показників системного оксидантного стресу, підтримувальних доз активності інгібітора ангіотензинперетворювального ферменту та петльового діуретика.

## Література

1. Беленков Ю.Н., Привалова Е.В., Чекнева И.С. и др. Сравнительный анализ антиоксидантной активности небиволола у больных с хронической сердечной недостаточностью и сопутствующим сахарным диабетом 2-го типа или без него // Кардиол.— 2011.— № 1.— С. 5–10.
2. Беленков Ю.Н., Мареев В.Ю., Агеев Ф.Т. Эндотелиальная дисфункция при сердечной недостаточности: возможности терапии ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента // Кардиол.— 2001.— № 5.— С. 100–104.
3. Воронков Л.Г., Шкурят І.А., Бесага Є.М. Ендотеліальна вазодилатація та її прогностичне значення у хворих з хронічною серцевою недостатністю і систолічною дисфункцією лівого шлуночка // Укр. кардіол. журн.— 2005.— № 6.— С. 23–30.
4. Досенко В.Є., Загорій В.Ю., Мойбенко О.О., Пархоменко О.М. Патологічні аспекти генетичного поліморфізму ендотеліальної NO-синтази // Фізіол. журн.— 2002.— № 6 (48).— С. 86–102.
5. Досенко В.Є., Лутай Я. М., Пархоменко О.М. Алельний поліморфізм ендотеліальної NO-синтази промотора T(–786)C гена як фактор ризику гострого коронарного синдрому // Фізіологія.— 2005.— № 51 (1).— С. 72–76.

6. Кузнецова Т.Ю., Дуданов И.П., Гаврилов Д.В. и др. Хроническая сердечная недостаточность у пациентов с артериальной гипертензией и полиморфизмы Glu298Asp NO-синтазы и C24Tr22phox гена NADPH-оксидазы // Сердечная недостаточность.— 2007.— № 6 (44).— С. 274—277.
7. Лойда Э., Гроссрау Р., Гиблер Т. Гистохимия ферментов. Лабораторные методы / Пер. с англ.— М.: Мир, 1992.— 271 с.
8. Норберт У. Тип. Энциклопедия клинических лабораторных тестов / Пер. с англ. под ред. В.В. Меньшикова.— М.: Лабинформ, 1997.— 960 с.
9. Тепляков А.Т., Шилов С.Н., Березикова Е.Н. и др. Полиморфизм генов eNOS и iNOS при хронической сердечной недостаточности у больных ишемической болезнью сердца // Кардиол.— 2010.— № 4.— С. 34—38.
10. Яковлева Н.Ф., Маянская С.Д., Яковлева А.В., Филиппенко М.Л. Влияние полиморфных вариантов гена эндотелиальной синтазы окиси азота на развитие и течение хронической сердечной недостаточности // Кардиоваскулярная терапия и профилактика.— 2008.— № 7 (5).— С. 56—60.
11. Anderson E.A., Mark A.L. Flow-mediated and reflex changes in large peripheral artery in humans // Circulation.— 1989.— Vol. 79.— P. 93—100.
12. Celemajer D.S., Sorensen K.E., Gooch V.M. et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis // Lancet.— 1992.— Vol. 340.— P. 1111—1115.
13. Dell’Omo G., Penno G., Pucci L., Fotino C. Lack of association between endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms, microalbuminuria and endothelial dysfunction in hypertensive men // J. Hypertens.— 2007.— Vol. 25 (7).— P. 1389—1395.
14. Dias R.G., Alves M.J., Pereira A.C. et al. Glu298Asp eNOS gene polymorphism causes attenuation in nonexercising muscle vasodilatation // Physiol. Genomics.— 2009.— Vol. 37 (2).— P. 99—107.
15. Doshi A.A., Ziolo M.T. A promoter polymorphism of endothelial nitric oxide synthase is associated with reduced mRNA and protein expression in failure human myocardium // J. Card. Fail.— 2010.— Vol. 16 (4).— P. 314—319.
16. Fischer D., Rossa S., Landmesser U. Endothelial dysfunction in patients with chronic heart failure is independently associated with increased incidence of hospitalization, cardiac transplantation or death // Eur. Heart J.— 2005.— Vol. 26.— P. 65—69.
17. Friedland J., Silvorstein E. A sensitive fluorimetric assay for serum angiotensin-converting enzyme // Am. J. Clin. Pathol.— 1976.— Vol. 2.— P. 416—428.
18. Godfrey V., Chan S., Cassidy A. et al. The functional consequence of the Glu298Asp polymorphism of endothelial nitric oxide synthase gene in young healthy volunteers // Cardiovasc. Drug Rev.— 2007.— Vol. 25 (3).— P. 280—288.
19. Gullestad L., Ueland T., Vinge L.E. et al. Inflammatory cytokines in heart failure: mediators and markers // Cardiology.— 2012.— Vol. 122.— P. 23—35.
20. Hornig B., Landmesser U., Kohler C. et al. Comperative effect of ACE inhibition and angiotensin II type 1 receptor antagonism on bioavailability of nitric oxide in patients with coronary artery disease. Role of superoxidizedismutase // Circulation.— 2001.— Vol. 104.— P. 2177—2181.
21. Huang W.Y., Sun M., Zhou H.Y. Effect of the polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene on the plasma angiotensin II levels and the risk of chronic heart failure // J. Investig. Med.— 2004.— Vol. 29 (2).— P. 198—200.
22. Hyndman M.E., Parsons H.G., Varma S. et al. The T-786- > C mutation in endothelial nitric oxide synthase is associated with hypertension // Hypertension.— 2002.— Vol. 39 (4).— P. 919—925.
23. Iwai N., Katsuya T., Inshikawa K. et al. Human prostacyclin synthase gene and hypertension: the Suita Study // Circulation.— 1999.— Vol. 100.— P. 2231—2236.
24. Joshi M., Mineo C., Shaul P., Bauer J. Biochemical consequences of the NOS3 Glu298Asp variation in human endothelium: altered caveolar localizacion and impaired response to shear // FASEB J.— 2007.— Vol. 21 (11).— P. 2655—2663.
25. McMurray J.J., Adamopoulos S., Anker S.D. et al. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC // Eur. Heart J.— 2012.— Vol. 33.— P. 1787—1847.
26. Miyamoto Y., Saito Y., Kajiyama N. et al. Endothelial nitric oxide synthase gene is positively associated with essential hypertension // Hypertension.— 1998.— Vol. 32.— P. 3—8.
27. Nakamura M., Arakawa N., Yoshida H. et al. Blunted peripheral vasodilatory response is a hallmark of progressive deterioration in mild to moderate congestive heart failure // J. Card.Fail.— 2001.— Vol. 7.— P. 38—44.
28. Nasreen S., Nabika T., Shibata H. et al. T-786C Polymorphism in Endothelial NO Synthase Gene Affects Cerebral Circulation in Smokers: Possible Gene-Environmental Interaction // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.— 2002.— Vol. 22.— P. 605—610.
29. Queisser N., Schupp N. Aldosterone, oxidative stress, and NF-κB activation in hypertension-related cardiovascular and renal diseases // Free Radic. Biol. Med.— 2012.— Vol. 53.— P. 314—327.
30. Rossi G.P., Taddei S., Virdis A. et al. The T- > C (-786) and Glu298Asp polymorphisms of the endothelial nitric oxide synthase gene affect th forearm blood flow responses of Caucasian hypertensive patients // J. Am. Coll. Cardiol.— 2003.— Vol. 41 (6).— P. 938—945.
31. Souza Silva P., Lacchini R., Gomes V. Pharmacogenetic implication of the eNOS polymorphisms for cardiovascular action drugs // J. Cardiovasc. Pharmacol.— 2011.— Vol. 45 (3).— P. 188—195.
32. Vecoli C., Andreassi M., Colombo M. et al. Influence of T786C polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene on insulin in patients with ischemic and non ischemic heart failure / Дани Конгресу з СН Європейського кардіологічного товариства, 2010.
33. Velloso M., Pereira S., Gouveia L. et al. Endothelial nitric oxide synthase Glu298Asp gene polymorphism in a multi-ethnic population with heart failure and controls // Nitric Oxide.— 2010.— Vol. 1.— P. 231—236.
34. Zalba G., San J.G., Moreno M.U. NADPH oxidase-mediated oxidative stress: genetic studies of the p22 (phox) gene in hypertension // Antioxid Redox Signal.— 2005.— Vol. 7 (9—10).— P. 1327—1336.
35. Zelis R., Mason D.T., Braunwald E.A. A comparison of the effect of vasodilator stimuli on peripheral resistance vessels in normal subject and in patients with congestive heart failure // J. Clin. Invest.— 1998.— Vol. 47.— P. 960—970.

## Полиморфные варианты T(-786)C и G894T гена эндотелиальной NO-синтазы и состояние вазодилатирующей функции эндотелия у больных с хронической сердечной недостаточностью

**Л.Г. Воронков, Н.Г. Горovenko, И.Д. Мазур, И.А. Шкурат, Л.С. Мхитарян, Н.Н. Орлова**

**Цель работы** — изучить связь состояния эндотелийзависимой вазодилатации (ЭЗВД) с полиморфными вариантами T(-786)C и G894T гена эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) у больных с хронической сердечной недостаточностью (ХСН).

**Материалы и методы.** Обследовано 96 пациентов с ХСН ишемического генеза II—III функционального класса (ФК) по NYHA и систолической дисфункцией левого желудочка (ЛЖ) — фракцией выброса (ФВ) ЛЖ ≤ 45 %, которые получали

стандартную терапию. Состояние ЭЗВД изучали с помощью пробы с реактивной гиперемией. В соответствии с медианой прироста диаметра плечевой артерии в фазу реактивной гиперемии ( $\Delta D$  6,4 %) всех больных распределили на две группы: группу А с  $\Delta D$  меньше 6,4 % и группу Б с  $\Delta D$  больше 6,4 %. Аллельные полиморфизмы T(-786)C и G894T определяли с помощью полимеразной цепной реакции. Для изучения показателей оксидантного стресса – диеновых конъюгат (ДК) и малонового диальдегида (МДА), антиоксидантной защиты – активности супероксиддисмутазы (СОД) и глутатион-редуктазы и активности ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) в плазме крови применяли спектрофотометрический и спектрофлуорометрический методы.

**Результаты и обсуждение.** ФК по NYHA у гомозигот CC полиморфизма T(-786)C составил  $2,9 \pm 1,1$ , у гетерозигот TC –  $2,7 \pm 0,8$ , у гомозигот TT –  $2,7 \pm 1,0$ , при сравнении групп различия не были статистически значимыми ( $p > 0,05$ ). ФВ ЛЖ была соответственно 38,0 [30,0; 44,0] %, 37,0 [28,0; 43,5] % и 33,0 [25,0; 37,0] % ( $p > 0,05$ ). В группе А преобладали носители генотипов TC и CC полиморфизма T(-786)C, в группе Б – носители генотипа TT ( $p = 0,038$ ). Медиана  $\Delta D$  у носителей генотипа TT составила 7,4 [5,1; 8,6] %, у гетерозигот TC – 6,9 [4,5; 8,7] %, тогда как у носителей генотипа CC – 4,1 [2,3; 6,0] %, что достоверно меньше, чем у носителей генотипов TT ( $p = 0,011$ ) и TC ( $p = 0,012$ ). Содержание ДК у носителей генотипа CC составило 1,8 [1,5; 2,5] усл. ед./мл, у носителей TC – 1,8 [1,0; 2,2] усл. ед./мл, TT – 1,8 [1,2; 2,8] усл. ед./мл ( $p > 0,05$ ); МДА соответственно 9,4 [8,6; 10,1] мкмоль/мл, 9,4 [7,8; 10,1] мкмоль/мл и 9,4 [8,6; 11,5] мкмоль/мл ( $p > 0,05$ ); уровень СОД – соответственно 2143,0 [1667,0; 2500,0] ед./л, 2282,0 [1505,3; 2557,0] ед./л и 2075,0 [1563,0; 2480,5] ед./л ( $p > 0,05$ ); уровень активности глутатион-редуктазы – соответственно 17,3 [13,3; 30,0] ед./л, 17,4 [15,4; 24,1] ед./л и 19,4 [15,4; 22,9] ед./л ( $p > 0,05$ ). Активность АПФ в плазме больных с генотипом CC равнялась 9,4 [7,7; 11,1] нмоль/(мл·мин), с TC – 9,2 [8,0; 10,4] нмоль/(мл·мин), с TT – 9,8 [8,0; 12,1] нмоль/(мл·мин) ( $p > 0,05$ ). ФК по NYHA у гомозигот TT полиморфизма G894T составлял  $2,7 \pm 1,1$ , у гетерозигот GT –  $2,8 \pm 0,9$ , у гомозигот GG –  $2,6 \pm 1,2$  ( $p > 0,05$ ). ФВ ЛЖ равнялась соответственно 33,0 [27,0; 38,0] %, 32,0 [30,0; 44,0] % и 34,0 [25,8; 40,0] % ( $p > 0,05$ ). В группе А преобладали больные с генотипами GT и TT полиморфизма G894T гена eNOS, в группе Б – носители генотипа GG ( $p = 0,041$ ). Содержание ДК у носителей генотипа TT составило 1,8 [1,4; 3,7] усл. ед./мл, у носителей GT – 1,6 [0,8; 2,5] усл. ед./мл, GG – 1,9 [1,2; 2,5] усл. ед./мл ( $p > 0,05$ ); МДА соответственно – 10,1 [8,8; 15,0] мкмоль/мл, 9,4 [8,6; 9,4] мкмоль/мл и 9,4 [8,6; 10,9] мкмоль/мл ( $p > 0,05$ ); уровень СОД – соответственно 2276,0 [1776,3; 2467,0] ед./л, 2118,0 [1429,0; 2688,5] ед./л и 2059,0 [1563,0; 2500,0] ед./л ( $p > 0,05$ ); уровень активности глутатион-редуктазы – соответственно 22,2 [16,2; 27,3] ед./л, 17,4 [14,5; 22,7] ед./л и 18,8 [15,4; 23,2] ед./л ( $p > 0,05$ ). Активность АПФ в плазме у больных с генотипом TT была 9,4 [7,1; 11,0] нмоль/(мл·мин), GT – 9,6 [8,3; 11,8] нмоль/(мл·мин), GG – 9,0 [7,8; 11,1] нмоль/(мл·мин) ( $p > 0,05$ ).

**Выводы.** Среди пациентов с ХСН ишемического генеза и систолической дисфункцией ЛЖ частота генотипов полиморфизма промотора гена eNOS составляла: TT – 41,7 %, TC – 42,7 %, редкий генотип CC был у 15,6 %, частота генотипов полиморфизма седьмого экзона G894T гена eNOS: GG – 56,3 %, GT – 31,2 %, редкий генотип TT имели 12,5 % больных. У больных с менее распространенным генотипом CC полиморфизма T(-786)C промотора гена eNOS наблюдали достоверно худший эндотелийзависимый вазодилаторный ответ по сравнению с гетерозиготами TC и гомозиготами TT. Худшие значения потокозависимого вазодилаторного ответа ( $\Delta D < 6,2$  %) ассоциируются с наличием в генотипе алеля T полиморфизма G894T гена eNOS. Различия потокозависимого вазодилаторного ответа у пациентов с разными генотипами полиморфных вариантов гена eNOS не зависят от класса по NYHA, величины ФВ ЛЖ, показателей системного оксидантного стресса, поддерживающих доз ингибитора АПФ и петлевого диуретика.

**Ключевые слова:** эндотелийзависимая вазодилатация, полиморфизм T(-786)C промотора, полиморфизм G894T седьмого экзона, ген эндотелиальной NO-синтазы, хроническая сердечная недостаточность.

## Polymorphic variants of the T(-786)C and G894T gene of endothelial NO-synthase and state of vasodilating endothelial function in patients with chronic heart failure

L.H. Voronkov, N.H. Horovenko, I.D. Mazur, I.A. Shkurat, L.S. Mkhitarian, N.M. Orlova

**The purpose** – to examine the relationship of endothelial-dependent vasodilation (EDVD) with polymorphic variants of the T(-786)C and G894T gene of endothelial NO-synthase (eNOS) in patients with chronic heart failure (CHF).

**Materials and methods.** The study involved 96 patients with CHF of ischemic origin of II–III NYHA functional class (FC) and systolic left ventricular (LV) dysfunction – LV EF  $\leq 45$  % who received standard therapy. Condition of EDVD was studied using samples with reactive hyperemia. According to the median increase in diameter of the brachial artery in the phase of reactive hyperemia (DD 6.4 %), all patients were divided into two groups: group A with DD less than 6.4 % and group B with DD over 6.4 %. Allelic polymorphisms T(-786)C and G894T were determined by polymerase chain reaction. Spectrophotometric and spectrofluorometric methods were used in blood plasma for the study of oxidative stress indexes – diene conjugate (DC) and malondialdehyde (MD), antioxidant protection – superoxide dismutase (SOD) and glutathione reductase activities and activity of angiotensin-converting enzyme (ACE).

**Results and discussion.** FC by NYHA in homozygotes CC of polymorphism T(-786)C was  $2.9 \pm 1.1$ , in heterozygotes TS –  $2.7 \pm 0.8$ , in homozygotes TT –  $2.7 \pm 1.0$ . No reliability was observed during the comparison of groups ( $p > 0.05$ ). LV EF was 38.0 [30.0; 44.0] %, 37.0 [28.0; 43.5] % and 33.0 [25.0; 37.0] %, respectively, ( $p > 0.05$ ). Carriers of genotypes TC and CC polymorphism T(-786)C dominated in group A, carriers of TT genotype ( $p = 0.038$ ) – in group B. Median DD was 7.4 [5.1; 8.6] % in TT genotype carriers, 6.9 [4.5; 8.7] % in heterozygotes TC, and 4.1 [2.3; 6.0] % in genotype CC carriers, which is significantly less than in TT genotype carriers ( $p = 0.011$ ) and TC genotype carriers ( $p = 0.012$ ). DC content was 1.8 [1.5; 2.5] arbitrary units/ml in CC genotype carriers, 1.8 [1.0; 2.2] arbitrary units/ml in TC carriers, 1.8 [1.2; 2.8] arbitrary units/ml ( $p > 0.05$ ) in TT genotype carriers; MD was 9.4 [8.6; 10.1]  $\mu\text{mol/ml}$ , 9.4 [7.8; 10.1]  $\mu\text{mol/ml}$  and 9.4 [8.6; 11.5]  $\mu\text{mol/ml}$ , respectively ( $p > 0.05$ ); SOD levels were 2143.0 [1667.0; 2500.0] units/l, 2282.0 [1505.3; 2557.0] units/l and 2075.0 [1563.0; 2480.5] units/l, respectively, ( $p > 0.05$ ); the



levels of glutathione reductase were 17.3 [13.3; 30.0] units/l, 17.4 [15.4, 24.1] units/l and 19.4 [15.4, 22.9] units/l, respectively ( $p > 0.05$ ). ACE activity in plasma was 9.4 [7.7; 11.1] nmol/(ml · min) in patients with CC genotype, 9.2 [8.0; 10.4] nmol/(ml · min) in patients with TC genotype, 9.8 [8.0, 12.1] nmol/(ml · min) in patients with TT genotype ( $p > 0.05$ ). NYHA FC was  $2.7 \pm 1.1$  in TT homozygotes of G894T polymorphism,  $2.8 \pm 0.9$  in heterozygotes GT,  $2.6 \pm 1.2$  in homozygotes GG ( $p > 0.05$ ). LV EF was 33.0 [27.0; 38.0] %, 32.0 [30.0; 44.0] and 34.0 % [25.8; 40.0] %, respectively ( $p > 0.05$ ). Patients with genotypes GT and TT of polymorphism G894T of eNOS gene predominated in group A, carriers of GG genotype ( $p = 0.041$ ) – in group B. DC content was 1.8 [1.4; 3.7] arbitrary units/ml in carriers of TT genotype, 1.6 [0.8, 2.5] arbitrary units/ml in carriers of GT genotype, 1.9 [1.2; 2.5] arbitrary units/ml in carriers of GG genotype ( $p > 0.05$ ); MD was 10.1 [8.8; 15.0]  $\mu\text{mol/ml}$ , 9.4 [8.6; 9.4]  $\mu\text{mol/ml}$  and 9.4 [8.6; 10.9]  $\mu\text{mol/ml}$ , respectively ( $p > 0.05$ ), SOD levels were 2276.0 [1776.3; 2467.0] units/l, 2118.0 [1429.0; 2688.5] units/l and 2059.0 [1563.0; 2500.0] units/l, respectively ( $p > 0.05$ ); glutathione reductase activity levels were 22.2 [16.2; 27.3] units/l, 17.4 [14.5; 22.7] units/l and 18.8 [15.4; 23.2] units/l, respectively ( $p > 0.05$ ). ACE activity in plasma was 9.4 [7.1; 11.0] nmol/(ml · min) in patients with TT genotype, 9.6 [8.3; 11.8] nmol/(ml · min) in patients with GT genotype, 9.0 [7.8; 11.1] nmol/(ml · min) in patients with GG genotype ( $p > 0.05$ ).

**Conclusions.** Among patients with CHF of ischemic origin and systolic LV dysfunction, the frequency of genotypes of polymorphism of the eNOS gene promoter was: TT – 41.7 %, CT – 42.7 %, rare genotype CC – 15.6 %; the frequency of genotypes of seventh exon polymorphism of the eNOS gene G894T was: GG – 56.3 %, GT – 31.2 %, rare TT genotype – 12.5 %. Patients with a less common genotype of CC polymorphism of T(–786)C promoter of gene eNOS manifested significantly worse endothelial-dependent vasodilation response compared with heterozygotes TC and homozygotes TT. Worse values of flowdependent vasodilation response ( $DD < 6.2$  %) are associated with the presence in the genotype of the T allele polymorphism G894T of gene eNOS. The difference between flowdependent vasodilation responses in patients with different genotypes of polymorphic variants of the eNOS gene does not depend on NYHA class, LV EF values, systemic oxidative stress indicators, maintenance doses of ACE inhibitor and loop diuretics.

**Key words:** endothelium vasodilatation, polymorphism of T(–786)C promoter, polymorphism G894T of seventh exon, gene of endothelial NO-synthase, chronic heart failure.