

# Поліморфізм $T^{-786} \rightarrow C$ гена ендотеліальної NO-синтази в пацієнтів з хронічною серцевою недостатністю залежно від наявності інсулінорезистентності

Л.Г. Воронков<sup>1</sup>, Н.Г. Горovenko<sup>2</sup>, М.Р. Ільницька<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика МОЗ України, Київ

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** хронічна серцева недостатність, поліморфізм  $T^{-786} \rightarrow C$  гена ендотеліальної NO-синтази, інсулінорезистентність

Хронічна серцева недостатність (ХСН) залишається актуальною проблемою кардіології, оскільки вона і сьогодні зумовлює високий рівень смертності та частоти госпіталізації пацієнтів, істотне зниження якості їх життя та значні фінансові витрати держави й суспільства в цілому [3]. Незважаючи на застосування сучасних медикаментозних засобів лікування, ефективність впливу яких на клінічний перебіг синдрому ХСН доведена у великих рандомізованих дослідженнях (CIBIS-II, MERIT-HF, COPERNICUS, SOLVD, EMPHASIS-HF та ін.), тривалість життя пацієнтів із ХСН та систолічною дисфункцією лівого шлуночка (СДЛШ) залишається обмеженою. Тому пошук чинників, які впливають на перебіг ХСН, вбачається актуальним. З огляду на це все більший інтерес дослідників викликає феномен інсулінорезистентності (ІР) [12, 16]. Показано, що ІР асоціюється з гіршою виживаністю [18, 26], а також із гіршим станом потокозалежної вазодилаторної відповіді в таких хворих [15, 19, 21].

Одним із чинників розвитку ІР є зниження адаптативних можливостей периферичного кровообігу, зокрема ендотеліязалежного компонента регуляції кровотоку [8, 25, 30]. Продемонстровано, що в реалізації ендотеліязалежної вазодилаторної відповіді відіграє роль генетичний поліморфізм, зокрема поліморфізм  $T^{-786} \rightarrow C$  гена ендотеліальної NO-синтази (eNOS) [4, 10, 13, 29].

Мета дослідження – оцінити поліморфні варіанти  $T^{-786} \rightarrow C$  гена ендотеліальної NO-синтази залежно від наявності інсулінорезистентності в пацієнтів із хронічною систолічною серцевою недостатністю.

## Матеріал і методи

У дослідження залучено 107 хворих на ХСН II–IV функціонального класу (ФК) за NYHA з фракцією викиду (ФВ) лівого шлуночка (ЛШ)  $\leq 40\%$  на тлі ішемічної хвороби серця (ІХС) або дилатаційної кардіоміопатії (ДКМП), які перебували на стаціонарному лікуванні у відділі серцевої недостатності ННЦ «Інститут кардіології ім. акад. М.Д. Стражеска» НАМН України.

У дослідження не вводили пацієнтів з інфарктом міокарда, мозковим інсультом або тромбоемболією гілок легеневої артерії давністю до 6 міс, набутими та природженими вадами серця, запальними і рестриктивними ураженнями серця, онкологічними та хронічними інфекційними захворюваннями, ендокринними захворюваннями (зокрема порушенням толерантності до глюкози та глюкози натще, цукровим діабетом 2-го типу, гіпер- та гіпотиреозом), хронічною хворобою нирок з рівнем креатиніну  $> 200$  мкмоль/л, хронічним обструктивним захворюванням легень III–IV стадії.

Діагноз основного захворювання встановлювали на підставі загальноклінічного обстежен-

ня і спеціальних лабораторних та інструментальних методів. ХСН діагностували згідно з чинними рекомендаціями Асоціації кардіологів України з діагностики, лікування та профілактики хронічної серцевої недостатності в дорослих (2012) [2]. Усім хворим проводили ехокардіографічне дослідження в М- та В- режимах, зокрема тканинну доплерографію із застосуванням загальноприйнятих методів на апараті Medison SonoAce 9900 (Samsung Medison, Республіка Корея) відповідно до рекомендацій робочої групи з функціональної діагностики Асоціації кардіологів України, Всеукраїнської асоціації фахівців з ехокардіографії (2013) [1]. Функцію ендотелію плечової артерії досліджували методом доплерографії з пробою з реактивною гіперемією у режимі триплексного ультразвукового сканування на апараті Siemens Sonoline Omnia (Німеччина) за загальноприйнятою методикою [14]. Рівень інсуліну визначали методом імуноферментного аналізу (ELISA) з використанням тест-системи DRG-Instruments (Німеччина). Стан чутливості до інсуліну оцінювали з використанням розрахункового індексу НОМА за формулою D. Matthews та співавторів (1985) [24]:

$$\text{НОМА} = \frac{\text{глюкоза натще (ммоль/л)} \times \text{інсулін натще (мкОд/мл)}}{22,5}$$

Критерієм ІР вважали величину індексу НОМА  $\geq 2,77$  згідно з чинними національними рекомендаціями [9]. Для визначення вмісту цитокінів (фактора некрозу пухлини  $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ), інтерлейкіну-6) у сироватці крові використовували імуноферментні тест-системи фірми ТОВ «Протеїновий контур» (Росія). Біохімічний аналіз периферійної крові виконували за допомогою автоматичного біохімічного аналізатора «А-25» (Biosystems, Іспанія).

Молекулярно-генетичне дослідження поліморфізму  $T^{-786} \rightarrow C$  за геном eNOS проводили на базі кафедри медичної та лабораторної генетики Національної медичної академії післядипломної

освіти ім. П.Л. Шупика. Для генотипування венозну кров набирали в стерильних умовах в моновети об'ємом 2,7 мл із калієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти як антикоагулянта (Sarstedt, Німеччина), заморожували та зберігали при  $t -20^{\circ}\text{C}$ . Із зразків периферійної крові виділяли геномну ДНК за допомогою комерційного набору «ДНК-сорб-В» (відповідно до інструкції, наданої виробником). Методом алель-специфічної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) визначали поліморфні варіанти  $T^{-786} \rightarrow C$  гена eNOS за модифікованими методиками [29]. Для цього ампліфікували ділянку промотора гена eNOS за допомогою пари специфічних праймерів (Metabion, Німеччина). Для ампліфікації брали 3 мкл ДНК та додавали до суміші, що містить 12,5 мкл Dream Taq Green PCR робочого розчину, по 20 пмоль праймера 1 та 2, об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. ПЛР проводили в термоциклері FlexCycler BU (Analytik Jena, Німеччина). Ампліфікація фрагментів складалася із 30 циклів: денатурація –  $94^{\circ}\text{C}$  (30 с), відпал праймерів –  $58^{\circ}\text{C}$  (30 с) та елонгація –  $72^{\circ}\text{C}$  (20 с). Стан ампліфікаційних фрагментів аналізували за допомогою горизонтального електрофорезу в 2,5 % агарозному гелі протягом 40 хв. Візуалізацію отриманих результатів проводили за допомогою транслюмінатора («Біоком», Росія). Наявність ампліфікаційних фрагментів з молекулярною масою 387 та 250 пар нуклеотидів (п. н.) відповідає генотипу ТТ, з молекулярною масою 387 п. н., 250 п. н. та 176 п. н. – генотип ТС, з молекулярною масою 387 п. н. та 176 п. н. – генотипу СС за геном eNOS (рисунок).

Вихідне обстеження проводили після першого етапу лікування (1–2 тиж), спрямованого на усунення клінічних ознак декомпенсації. На момент залучення в дослідження пацієнти отримували стандартну фармакотерапію згідно з чинними рекомендаціями [2].

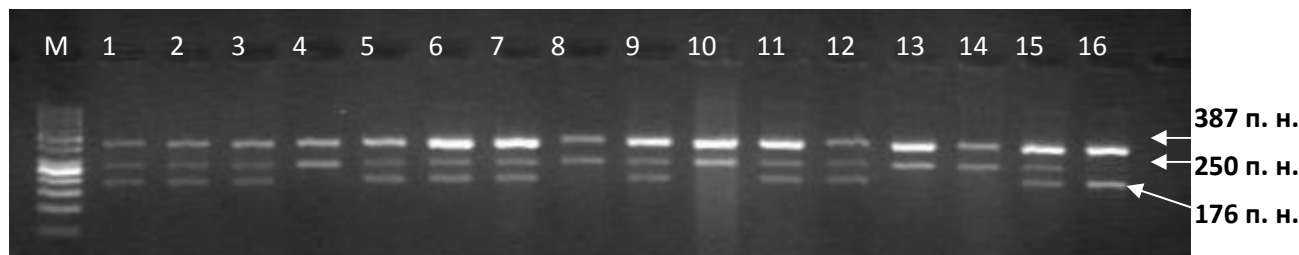


Рисунок. Електрофореграма фрагментів ДНК гена eNOS ( $T^{-786} \rightarrow C$ ) у 2 % агарозному гелі. Зразки 1–3, 5–9, 11, 12, 15 – генотип ТТ, зразки 4, 8, 10, 13, 14 – генотип ТТ, зразок 16 – генотип СС, М – маркер молекулярної маси.

Дані опрацьовували за допомогою електронних таблиць Excel 2000 та пакета програм SPSS Statistics 13.0. Для аналізу даних використовували методи описової статистики (для кількісних параметрів –  $n$ , середнє арифметичне, медіана, стандартне відхилення, мінімум та максимум, нижній та верхній квантилі; для категоріальних параметрів – частота та частка у відсотках). З метою порівняння підгруп за категоріальними змінними використовували точний критерій Фішера. Для порівняння груп за кількісними параметрами використовували критерій Стюдента для незалежних змінних або критерій Манна – Уїтні залежно від нормальності розподілу даних, що порівнювалися. У разі нормального розподілу даних наводили середні арифметичні значення і стандартні відхилення, при ненормальному розподілі – медіану, нижній та верхній квантилі ( $Me$  ( $Q_1$ ;  $Q_4$ )). Нормальність розподілу даних перевіряли за допомогою критерію Шапіро – Вілка. Рівнем значущості для критерію Шапіро – Вілка вважали 0,01, а для інших критеріїв – 0,05 [11].

## Результати та їх обговорення

IP реєстрували у 45 (42 %) пацієнтів з ХСН та СДЛШ. Середній вік хворих без IP становив ( $60,03 \pm 11,3$ ) року, з IP – ( $58,11 \pm 11,23$ ) року; серед обстежених було 94 (87,85 %) чоловіки та 13 (12,14 %) жінок. У дослідженні переважали хворі з ІХС (84 (78,5 %)), у тому числі в поєднанні з гіпертонічною хворобою (75 (70,0 %)) та з перенесеним у минулому інфарктом міокарда (30 (28,0 %)), з ДКМП було 23 (21,5 %) пацієнти. Постійну форму фібриляції передсердь спостерігали в 60 (56,0 %) обстежених, у 47 (43,9 %) хворих зберігався синусовий ритм. У 43 (40,2 %) пацієнтів відзначено II ФК за NYHA, у 64 (59,8 %) – III–IV ФК за NYHA. Індекс НОМА у хворих з IP становив 3,58 (2,96; 5,74) (значення подано у вигляді  $Me$  ( $Q_1$ ;  $Q_4$ )) порівняно з 1,85 (0,95; 2,31) у хворих без IP ( $P < 0,001$ ). Близько третини осіб (33 зі 107) мали значення індексу НОМА від 3,0 і більше. Пацієнти з IP мали достовірно вищі рівні глюкози натще ( $(5,39 \pm 0,59)$  проти  $(4,98 \pm 0,62)$  ммоль/л;  $P = 0,001$ ). Рівень інсуліну також був суттєво вищим ( $15,34$  ( $12,97$ ;  $24,27$ ) мкОд/мл), ніж у хворих без IP ( $7,87$  ( $4,87$ ;  $10,39$ ) мкОд/мл;  $P < 0,001$ ). За співвідношенням статей, етіологічним чинником ХСН, перенесеним інфарктом міокарда, частотою пацієнтів з постійною/персис-

Таблиця 1

Основні клініко-демографічні та інструментальні показники у пацієнтів з ХСН залежно від наявності інсулінорезистентності

Показник	Величина та частота виявлення показника у групах	
	НОМА < 2,77 (n=62)	НОМА $\geq$ 2,77 (n=45)
Чоловіки, n (%)	54 (87,1 %)	40 (88,49 %)
ІХС, n (%)	49 (79,0 %)	35 (77,8 %)
Гіпертонічна хвороба, n (%)	43 (69,4 %)	32 (71,1 %)
Інфаркт міокарда, n (%)	17 (27,4 %)	13 (28,9 %)
ДКМП, n (%)	13 (21,0 %)	10 (22,2 %)
Фібриляція передсердь, n (%)	33 (53,2 %)	27 (60,0 %)
ФК за NYHA, n (%)		
II	25 (40,3 %)	18 (40,0 %)
III–IV	37 (59,7 %)	27 (60,0 %)
Вік, років, $M \pm SD$	$60,03 \pm 11,30$	$58,11 \pm 11,23$
Індекс маси тіла, $kg/m^2$ , $M \pm SD$	$29,30 \pm 5,93$	$29,89 \pm 5,02$
САТ, мм рт. ст., $Me$ ( $Q_1$ ; $Q_4$ )	117,5 (108,75; 121,25)	115,0 (110; 120)
ФВ ЛШ, %, $M \pm SD$	$27,56 \pm 7,94$	$27,51 \pm 8,45$
ШКФ, мл/(хв · $1,73 m^2$ ), $M \pm SD$	$65,35 \pm 13,42$	$64,27 \pm 13,81$

**Примітка.** Усі відмінності між групами статистично не значущі ( $P > 0,05$ ). САТ – систолічний артеріальний тиск; ШКФ – швидкість клубочкової фільтрації.

тентною фібриляцією передсердь, розподілом за ФК за NYHA групи достовірно не розрізнялися (табл. 1). Також не виявлено достовірних відмінностей за середнім віком, індексом маси тіла, рівнем САТ, ФВ ЛШ, а також розрахованими величинами ШКФ.

Водночас у пацієнтів з IP спостерігали достовірно гіршу потокозалежну вазодилаторну відповідь плечової артерії порівняно з хворими без IP – відповідно 5,40 (4,63; 7,95) та 7,99 (5,21; 11,50) %;  $P = 0,033$  [5].

Серед 104 обстежених із ХСН та СДЛШ (три пацієнти відмовилися від генетичного обстеження з релігійних міркувань) генотип ТТ поліморфізму промотора  $T^{-786} \rightarrow C$  гена eNOS відзначено у 43,2 % осіб з IP, 31,7 % – без IP; гетерозигот ТС було відповідно 45,5 та 55,0 %; так званий рідкісний генотип СС реєстрували в групах з майже однаковою частотою. Відмінностей за частотою виявлення різних поліморфних варіантів  $T^{-786} \rightarrow C$  гена eNOS між групами хворих з IP та без IP не виявлено (табл. 2).

Про самостійну роль ендотелію в регуляції судинного тонуусу було відомо з 1980 р., коли

Таблиця 2

Поліморфні варіанти  $T^{-786} \rightarrow C$  гена ендотеліальної NO-синтази у пацієнтів з ХСН залежно від наявності інсулінорезистентності

Показник	Частота виявлення показника у групах	
	НОМА < 2,77 (n=60)	НОМА ≥ 2,77 (n=44)
ТТ	19 (31,7 %)	19 (43,2 %)
ТС	33 (55,0 %)	20 (45,5 %)
СС	8 (13,3 %)	5 (11,4 %)

**Примітка.** Усі відмінності між групами статистично не значущі ( $P > 0,05$ ).

R. Furchgott та J. Zawadzki виявили здатність ізольованої артерії до самостійної зміни м'язового тону у відповідь на ацетилхолін без участі центральних механізмів. Головну роль при цьому відводили ендотеліальним клітинам [20]. Оксид азоту (NO) бере активну участь у регуляції судинного тону та кровотоку (зокрема базального), системної та регіональної гемодинаміки. Відомо, що судини дрібного та середнього діаметра синтезують більшу кількість NO, ніж судини великого діаметра [28]. За рахунок цього NO регулює периферичний опір, артеріальний тиск та розподіл кровотоку в кровоносній системі [23]. Щодо системної вазоконстрикції, яка є характерною для ХСН, NO, як ендогенний вазодилататор, виконує контррегуляторну роль.

Показано, що наявність алеля С гена eNOS  $T^{-786} \rightarrow C$  у промоторі пов'язана з феноменом IP у пацієнтів як з цукровим діабетом 2-го типу, так і без нього [29]. У цьому дослідженні особи з генотипом СС мали вищий системний артеріальний тиск, вищі рівні глюкози та інсуліну в плазмі крові та вищий індекс НОМА, ніж хворі з генотипом ТТ; за даними мультиваріантної логістичної регресії, предикторами IP були наявність артеріальної гіпертензії та генотип. Зокрема генотип СС підвищував ризик IP у 4,5 разу [29].

Згідно з отриманими нами даними, в обстеженої когорти пацієнтів із систолічною ХСН генетичний поліморфізм  $T^{-786} \rightarrow C$  гена eNOS у промоторі не був чинником, асоційованим з наявністю IP. Ймовірно, що в значному погіршенні потокозалежної вазодилататорної відповіді, яку спостерігали саме в пацієнтів з IP, більшу роль відігравали інші чинники, зокрема вищий рівень системного запалення, виявлений у таких хворих. Зокрема, рівень ФНП- $\alpha$  у хворих на ХСН з IP виявився достовірно вищим, ніж у пацієнтів без IP (відповідно 3,4 (1,35; 19,25) та 2,8 (0,82; 5,38) пг/мл;  $P=0,041$ ) [7]. Рівень інтерлейкіну-6 плазми крові в

осіб з ХСН та IP теж мав тенденцію до підвищення (5,03 (2,25; 9,82) пг/мл) порівняно з таким у хворих на ХСН без IP (2,99 (1,55; 9,23) пг/мл) [7]. На гірший стан потокозалежної вазодилататорної відповіді плечової артерії у пацієнтів з IP міг, ймовірно, також вплинути і вищий рівень оксидантного стресу [22], маркером якого є рівень сечової кислоти в сироватці крові [17, 27]. У пацієнтів із ХСН та IP виявився достовірно вищий ( $P=0,003$ ) рівень сечової кислоти ((549,37±155,23) мкмоль/л) порівняно з таким у хворих на ХСН без IP ((463,55±131,15) мкмоль/л) [7]. Це підтверджують і результати кластерного аналізу, за даними якого головними предикторами IP були рівень ФНП- $\alpha$  (відношення шансів (ВШ) 3,9; 95 % довірчий інтервал (ДІ) 1,257–12,102) та рівень сечової кислоти в сироватці крові (ВШ 3,2; 95 % ДІ 1,276–8,027) [6].

Отже, феномен IP при ХСН асоційований з гіршим станом вазодилататорної функції ендотелію. Водночас, отримані нами дані свідчать, що в пацієнтів з ХСН та IP на функцію ендотелію можуть впливати такі чинники, як ступінь вираження системного оксидантного стресу та рівень прозапальних цитокінів, а роль поліморфізму  $T^{-786} \rightarrow C$  гена eNOS у промоторі вимагає подальшого з'ясування. Обмеження цього дослідження – відносно невелика абсолютна кількість пацієнтів, які є носіями рідкісного, потенційно несприятливого щодо експресії eNOS генотипу СС, що могло вплинути на оцінку його ролі при IP.

## Висновки

1. У 42 % пацієнтів з хронічною серцевою недостатністю та систолічною дисфункцією лівого шлуночка спостерігається інсулінорезистентність.

2. Серед обстежених пацієнтів з хронічною серцевою недостатністю та систолічною дисфункцією лівого шлуночка частота генотипів ТТ, ТС, СС  $T^{-786} \rightarrow C$  гена ендотеліальної NO-синтази достовірно не відрізнялася у групах з інсулінорезистентністю та без неї.

3. Гірший стан потокозалежної вазодилататорної відповіді плечової артерії в пацієнтів з хронічною серцевою недостатністю та інсулінорезистентністю порівняно з хворими без інсулінорезистентності асоціювався з вищими рівнями фактора некрозу пухлини  $\alpha$  та сечової кислоти сироватки крові.

## Література

1. Асоціація кардіологів України, Всеукраїнська асоціація фахівців з ехокардіографії. Рекомендації робочої групи з функціональної діагностики (2013) // <http://www.webcardio.org/Data/Sites/1/lecture/rekomendacii-colichestva.pdf>.
2. Асоціація кардіологів України, Українська асоціація фахівців з серцевої недостатності. Рекомендації з діагностики та лікування хронічної серцевої недостатності (2012) // <http://strazhesko.org.ua/upload/2014/02/20/skor-variantrekomen-daciy-2012.pdf>.
3. Воронков Л.Г. Пацієнт із ХСН в Україні: аналіз усієї популяції пацієнтів, обстежених у рамках першого національного зрізового дослідження UNIVERS // Серцева недостатність.– 2012.– № 1.– С. 8–13.
4. Воронков Л.Г., Горovenko Н.Г., Мазур І.Д. та ін. Поліморфні варіанти T(–786)C і G894T гена ендотеліальної NO-синтази та стан вазодилатаційної функції ендотелію у хворих із хронічною серцевою недостатністю // Серце і судини.– 2012.– № 4.– С. 43–51.
5. Воронков Л.Г., Ильницкая М.Р., Рей Е.С., Шкурат И.А. Магистральный периферический кровоток и потокзависимая вазодилатация у пациентов с хронической систолической сердечной недостаточностью в зависимости от наличия феномена инсулинорезистентности // Кардиология в Беларуси.– 2014.– № 5 (36).– С. 31–39.
6. Воронков Л.Г., Ильницкая М.Р., Бабич П.М., Мхітарян Л.С. Предиктори інсулінорезистентності у пацієнтів з хронічною серцевою недостатністю та систолічною дисфункцією лівого шлуночка // Укр. мед. часопис.– 2014.– № 5 (103).– С. 134–138.
7. Воронков Л.Г., Ильницкая М.Р., Гавриленко Т.І. та ін. Стан гормонів жирової тканини, циркулюючого фактора некрозу пухлини- $\alpha$  та показників ліпідного обміну залежно від наявності інсулінорезистентності в пацієнтів з хронічною серцевою недостатністю і систолічною дисфункцією лівого шлуночка // Укр. кардіол. журн.– 2014.– № 5.– С. 80–87.
8. Воронков Л.Г., Шкурат І.А., Бесага Є.М. Ендотелійзалежна вазодилатація та її прогностичне значення у хворих з хронічною серцевою недостатністю і систолічною дисфункцією лівого шлуночка // Укр. кардіол. журн.– 2005.– № 6 – С. 86–90.
9. Мітченко О.І., Корпачев В.В. Робоча група з проблем метаболічного синдрому, цукрового діабету, предіабету і серцево-судинних захворювань. Українська асоціація кардіологів, Українська асоціація ендокринологів. Діагностика і лікування метаболічного синдрому, цукрового діабету, предіабету і серцево-судинних захворювань: Методичні рекомендації.– К., 2009.– 42 с.
10. Пархоменко А.Н., Лутай Я.М., Досенко В.Е. и др. Распространенность, патогенетическое и прогностическое значение полиморфизма промотора гена эндотелиальной NO-синтазы у больных с острым коронарным синдромом // Укр. кардіол. журн.– 2005.– № 4.– С. 20–26.
11. Петри А., Сэбин К. Наглядная статистика в медицине / Пер. с англ. В. Леонова.– М.: Гэотар-Мед, 2003.– 144 с.
12. Banerjee D., Biggs M., Mercer L. et al. Insulin resistance and risk of incident heart failure. Cardiovascular health study // Circ. Heart Fail.– 2013.– Vol. 6(3).– P. 364–370.
13. Casas J.P., Cavalleri G.L., Bautista L.E. et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and cardiovascular disease: a HuGE review // Am. J. Epidemiol.– 2006.– Vol. 164 (10).– P. 921–935.
14. Celermajer 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.
15. Cersosimo E., De Fronzo R. Insulin resistance and endothelial dysfunction: the road map to cardiovascular diseases // Diabetes Metab. Res. Rev.– 2006.– Vol. 22 (6).– P. 423–436.
16. Coast A., Anker S. Insulin resistance in chronic heart failure // J. Cardiovasc. Pharmacol.– 2000.– Vol. 35.– P. 9–14.
17. Doehner W., Anker S. Uric acid in chronic heart failure // Semin. Nephrol.– 2005.– Vol. 25.– P. 61–66.
18. Doehner W., Rauchhaus M., Ponikowski P. et al. Impaired insulin sensitivity as an independent risk factor for mortality in patients with stable chronic heart failure // J. Am. Coll. Cardiol.– 2005.– Vol. 46 (6).– P. 1019–1026.
19. Fischer D., Rossa S., Landmesser U. et al. 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 (1).– P. 65–69.
20. Furchgott R., Zawadzki J. The obligatory role endothelial cells in the relaxation of arterial smooth by acetylcholine // Nature.– 1980.– Vol. 288.– P. 373–376.
21. Hsueh W.A., Quiñones M.J. Role of endothelial dysfunction in insulin resistance // Am. J. Cardiol.– 2003.– Vol. 18, Issue 92 (4A).– P. 10J–17J.
22. Kovacs I., Toth J., Tarjan J., Koller A. Correlation of flow mediated dilation with inflammatory markers in patients with impaired cardiac function. Beneficial effects of inhibition of ACE // Eur. J. Heart Failure.– 2006.– Vol. 8.– P. 451–459.
23. Marín J., Rodríguez-Martínez M.A. Role of vascular nitric oxide in physiological and pathological conditions // Pharmacol. Ther.– 1997.– Vol. 75 (2) – P. 111–134.
24. Matthews D., Hosker J., Rudenski A. et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man // Diabetologia.– 1985.– Vol. 28 (7).– P. 412–419.
25. Miniello V.L., Faienza M.F., Scicchitano P. et al. Insulin resistance and endothelial function in children and adolescents // Int. J. Cardiol.– 2014.– Vol. 174 (2).– P. 343–347.
26. Mohan M., Deshmukh H., Baig F. et al. Insulin resistance is associated with all-cause mortality and accelerates the risk of progression to diabetes in non diabetic heart failure patients // J. Am. Coll. Cardiol.– 2014.– Vol. 63 (Issue 12).
27. Ruggiero C., Cherubini A., Ble A. et al. Uric acid and inflammatory markers // Eur. Heart J.– 2006.– Vol. 27.– P. 1174–1181.
28. Umans J.G., Levi R. Nitric oxide in the regulation of blood flow and arterial pressure // Ann. Rev. Physiol.– 1995.– Vol. 57.– P. 771–790.
29. Vecoli C., Andreassi M.G., Liga R. et al. T<sup>-786</sup>→C polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with insulin resistance in patients with ischemic or non ischemic cardiomyopathy // Medical. Genetics.– 2012.– Vol. 13.– P. 92.
30. Voronkov L., Shkurat I., Besaga E. Exercise capacity, peripheral arterial blood flow and endothelium-dependent vasodilation under long-term carvedilol treatment in chronic heart failure // Eur. J. Heart Failure.– 2005.– Vol. 4 (Suppl. 1).– P. 89.

Надійшла 20.11.2014 р.

## Полиморфизм T<sup>-786</sup>→C гена эндотелиальной NO-синтазы у пациентов с хронической сердечной недостаточностью в зависимости от наличия инсулинорезистентности

Л.Г. Воронков<sup>1</sup>, Н.Г. Горovenko<sup>2</sup>, М.Р. Ильницькая<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ГУ «Национальный научный центр «Институт кардиологии им. акад. Н.Д. Стражеско» НАМН Украины», Киев

<sup>2</sup> Национальная медицинская академия последилового образования им. П.Л. Шутика МЗ Украины, Киев

**Цель работы** – оценить полиморфные варианты T<sup>-786</sup>→C гена эндотелиальной NO-синтазы в зависимости от наличия инсулинорезистентности (ИР) у пациентов с хронической систолической сердечной недостаточностью (ХСН).

**Материал и методы.** Обследовано 107 пациентов с ХСН II–IV функционального класса по NYHA с фракцией выброса левого желудочка (ЛЖ) ≤ 40 % без сахарного диабета на фоне ишемической болезни сердца или дилатационной кардиомиопатии. Пациентам проводили общеклинические исследования, электрокардиографию, рентгенологическое исследование органов грудной клетки, эхокардиографию, доплерографию плечевой артерии с пробой на реактивную гиперемию. Уровень инсулина определяли иммуноферментным методом. Критерием ИР служила величина индекса HOMA ≥ 2,77. Для определения уровня фактора некроза опухоли α (ФНО-α) в плазме крови использовали иммуноферментные тест-системы. Молекулярно-генетическое исследование полиморфизма T<sup>-786</sup>→C гена эндотелиальной NO-синтазы проводили методом полимеразной цепной реакции, определяли полиморфные варианты T<sup>-786</sup>→C гена eNOS по модифицированным методикам.

**Результаты.** Феномен ИР наблюдали у 45 (42 %) пациентов с ХСН. Около трети пациентов (33 из 107) имели значение индекса HOMA от 3,0 и более. Сравнение групп пациентов с ХСН в зависимости от наличия ИР не показало достоверных различий по основным клинико-демографическим, гемодинамическим и эхокардиографическим показателям. Однако пациенты с ХСН и ИР имели достоверно худший потокзависимый вазодилаторный ответ плечевой артерии по сравнению с группой без ИР (соответственно 5,40 (4,63; 7,95) и 7,99 (5,21; 11,50) %; P=0,033). Среди 104 обследованных пациентов с ХСН и систолической дисфункцией ЛЖ генотип TT полиморфизма промотора T<sup>-786</sup>→C гена eNOS наблюдали у 43,2 % лиц с ИР и 31,7 % пациентов без ИР; гетерозигот TC было 45,5 % с ИР, 55,0 % без ИР; генотип CC регистрировали в группах с одинаковой частотой. Различий по частоте выявления различных полиморфизмов T<sup>-786</sup>→C гена eNOS между группами пациентов с ИР и без ИР не обнаружено. Однако пациенты с ХСН и ИР имели достоверно более высокие уровни ФНО-α и мочевой кислоты в сыворотке крови по сравнению с группой пациентов с ХСН без ИР.

**Выводы.** У 42 % пациентов с ХСН и систолической дисфункцией ЛЖ наблюдают ИР. Частота выявления генотипов TT, TC, CC T<sup>-786</sup>→C гена эндотелиальной NO-синтазы достоверно не отличалась в группах больных с ИР и без таковой. Худший ответ потокзависимой вазодилатации плечевой артерии у пациентов с ХСН и наличием феномена ИР ассоциировался с более высокими уровнями ФНО-α и мочевой кислоты в сыворотке крови.

**Ключевые слова:** хроническая сердечная недостаточность, полиморфизм T<sup>-786</sup>→C гена эндотелиальной NO-синтазы, инсулинорезистентность.

## T<sup>-786</sup>→C polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene in patients with chronic heart failure, depending on the insulin resistance

L.G. Voronkov<sup>1</sup>, N.G. Gorovenko<sup>2</sup>, M.R. Ilynska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> National Scientific Center «M.D. Strazhesko Institute of Cardiology NAMS of Ukraine», Kyiv, Ukraine

<sup>2</sup> Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine

**The aim** – to assess polymorphic variants of T<sup>-786</sup>→C gene of endothelial NO-synthase depending on presence of insulin resistance (IR) in patients with systolic chronic heart failure (CHF).

**Material and methods.** We have examined 107 patients (pts) with CHF of II–IV NYHA class with left ventricular systolic dysfunction without diabetes, with coronary heart disease or dilated cardiomyopathy. The pts have undergone general clinical studies, echocardiography, flow-mediated vasodilatory response (FMD) of arteria brachialis. Insulin was determined by the automatic enzyme immunoassay method. Index HOMA ≥ 2.77 was taken into account as a criterion for IR. To determine plasma level of TNF-α we have used enzyme immunoassay test system. The molecular genetic study of polymorphism T<sup>-786</sup>→C gene of endothelial NO-synthase based on method of the polymerase chain reaction determined polymorphic variants of T<sup>-786</sup>→C eNOS gene according to modified procedures.

**Results.** IR phenomenon has been found in 45 pts (42 %) with chronic heart failure. About a third of pts (33 of 107) had the HOMA index value between 3.0 or higher. The main clinic-demographic, hemodynamic, echo parameters have not shown a statistically significant difference between pts with CHF with or without IR. However, pts with CHF and IR had significantly lower FMD (5.40 (4.63; 7.95) %) of arteria brachialis than pts without IR, where correspondingly (7.99 (5.21; 11.50) %; P=0.033). Among 104 examined pts with CHF (three patients refused genetic testing for religious reasons) the promoter polymorphism genotype TT T<sup>-786</sup>→C eNOS gene has been observed in 43.2 % (n=19) pts with IR, and in 31.7 % (n=19) without IR; there have been 45.5 % of TC heterozygotes (n=20) with IR, and 55.0 % (n=33) without IR; the so-called rare genotype CC has been observed in both groups almost equally.

**Conclusions.** Insulin resistance has been detected in 42 % patients with CHF and left ventricular systolic dysfunction. Among examined pts with systolic CHF frequency of genotypes TT, TC, CC T<sup>-786</sup>→C gene of endothelial NO-synthase has not differed significantly in the groups with and without IR. Poor flow-mediated vasodilatory response of arteria brachialis in pts with CHF and the presence of phenomenon of IR has been associated with higher levels of TNF-α and uric acid in the blood serum.

**Key words:** chronic heart failure, T<sup>-786</sup>→C polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene, insulin resistance.