

**МЕДИЦИНА ИЛИМДЕРИ**  
**МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ**  
**MEDICAL SCIENCES**

*Сагынбаева Г.А., Калиев Р.Р.*

**eNOS ГЕНИНИН ПОЛИМОРФИЗМИ: ТАРАЛЫШЫ ЖАНА  
 БӨЙРӨК ООРУЛАРЫ МЕНЕН БАЙЛАНЫШЫ**

*Сагынбаева Г.А., Калиев Р.Р.*

**ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА eNOS: РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ  
 И СВЯЗЬ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПОЧЕК**

*G.A. Sagynbaeva, R.R. Kaliev*

**eNOS GENE POLYMORPHISM: PREVALENCE AND  
 ASSOCIATION WITH KIDNEY DISEASE**

УДК: 616.12-008.64-036.11-037.

Гендердин жана анын полиморфизмдеринин ар түрдүү этникалык топтордо жана популяцияларда таралышы жөнүндөгү популяциялык маалыматтар ушул макалада берилген, гендин полиморфизмдеринин эндотелиалдык синтаздарынын бөйрөк оорусунун күчөшү менен байланыштуулугу жөнүндөгү билдирүү чагылдырылган. Вазодилатация кубулушу дагы негизги ролду ойногон оксид азотунун пайда болушуна жооптуу болгон, эндотелиалдык синтаз – эндотелиалдык нитрооксид синтаз ферментин иштеп чыгарат. Эндотелия функциялардын бузулуусуна байланыштуу гендердин активдүүлүгүнүн төмөндөшү же кысылышы ар түрдүү оорулардын өнүгүшүнө алып келет. eNOS полиморфизминин генинин байланыштары жана бирикмелери жөнүндөгү маалымат жаңы ыкмаларды издеп табуу үчүн мүмкүнчүлүк берип, оорулууларга терапиялык жекече мамиле жасоону өнүктүрөт. Гендин полиморфизмдердин жетишсиз изилдегендиги жана ушул маселе боюнча изилдөөнү улантуу зарылчылыгы жөнүндө тыянак чыгарылды.

**Негизги сөздөр:** гендин полиморфизми, азоттун оксиди, бөйрөк оорусу, нефропатия, эндотелиалдык синтаза, дарылоо.

В этой статье приведены популяционные данные о распространенности гена и его полиморфизмов в различных этнических группах и популяциях, также освещены сведения о взаимосвязи полиморфизмов гена эндотелиальной синтазы с развитием заболеваний почек. Показано, что ген эндотелиальной синтазы кодирует фермент – эндотелиальный нитрооксид синтазу, отвечающий за появление оксида азота, играющего основную роль в процессах вазодилатации. Снижение или подавление активности гена приводит к развитию раз-

личных заболеваний, связанных с дисфункцией эндотелия. Информация о связях полиморфизма гена eNOS с появлением ренальной патологии предоставляет возможность для поиска новых персонализированных подходов к терапии пациентов. Сделан вывод о недостаточной изученности полиморфизмов гена и необходимости продолжить исследования по этому вопросу.

**Ключевые слова:** полиморфизм гена, оксид азота, почечная недостаточность, нефропатия, эндотелиальная синтаза, терапия.

This review provides population data on the prevalence of a gene and its polymorphisms in various ethnic groups and populations, and highlights the relationship between polymorphisms of the endothelial synthase gene and the development of kidney diseases. It has been shown that the endothelial synthase gene encodes an enzyme - endothelial nitroxide synthase, which is responsible for the appearance of nitric oxide, which plays a major role in vasodilatation processes. Reduction or suppression of gene activity leads to the development of various diseases associated with endothelial dysfunction. Information on the links of the polymorphism of the eNOS gene with the advent of renal pathologies provides an opportunity to search for new personalized approaches to patient therapy. It was concluded that the gene polymorphisms are not sufficiently studied and that it is necessary to continue research on this issue.

**Key words:** gene polymorphism, nitric oxide, renal failure, nephropathy, endothelial synthase, therapy.

Открытие эндотелий – зависимого фактора релаксации, который в 1980 году был осуществлен Furchgott R.F. et al. [1], как оксид азота (NO), определило интерес к сосудистой эндотелиальной функции, а также развитие нового направле-

ния исследований – эндотелиальной дисфункции, как основного фактора патогенеза изменений сосудов и необходимости ее терапевтической коррекции [2].

NO обладает широким спектром биологического действия: участвует в работе центральной и вегетативной нервной систем, в регуляции сердечно-сосудистой деятельности, в функционировании желудочно-кишечного и мочеполового трактов, в работе секреторных тканей и органов дыхания. Цитостатическая и/или цитотоксическая активность NO, которая может проявляться при его высоких концентрациях, указывает на его роль в системе клеточного иммунитета. Эта функция определяет влияние NO на процессы апоптоза и иницирования [3].

Выработка NO идет в двух режимах: базальном и стимулированном. Базальный режим в физиологических условиях поддерживает тонус сосудов и препятствует адгезии форменных элементов крови на сосудистый эндотелий. В случае стимулированной секреции – синтез NO усиливается при динамическом напряжении мышечных элементов сосуда, сниженном содержании кислорода в ткани, в ответ на выброс в кровь ацетилхолина, гистамина, норадреналина, брадикинина, АТФ и др. [4].

Синтез NO из L – аргинина осуществляется под действием трех основных изоформ фермента NO – синтаз (NOS): нейрональной (nNOS), эндотелиальной (eNOS) и индуцибельной (iNOS). В активной форме все три изоформы представляют собой гомодимеры с молекулярной массой 130 (iNOS), 135 (eNOS) и 160 (nNOS) кДа [3,5]. nNOS и eNOS являются конститутивными, то есть постоянно транскрибируются в нейрональных и эндотелиальных клетках соответственно. В частности eNOS организует базальную секрецию NO [6], уровень и активность которого зависят от аллельного варианта генов eNOS. NO – это термодинамически неустойчивая молекула, продолжительность жизни которой в крови человека менее пяти секунд. Вследствие этого, гораздо больший объем NO составляют его производные: нитриты, нитраты, пероксинитриты, тионитриты, время существования которых в организме составляет уже несколько минут (даже часы) и которые определяют их смысл в качестве депо NO в организме [7].

В настоящее время накоплен существенный объем данных об ассоциации полиморфизма гена eNOS с разными заболеваниями. Полимор-

физм гена является одним из существенных факторов, влияющих на уровень экспрессии eNOS. Частота мутаций в различных популяциях существенно отличается, что может в значительной степени объяснять распространенность той или иной патологии в разных этнических группах и популяциях [8].

Ряд мета – анализов посвящен ассоциации полиморфизма ген eNOS и заболеваний почек. Так в 2015 году проведено изучение взаимосвязи Glu298Asp полиморфизма гена eNOS и прогрессирования хронического заболевания почек (ХБП) у пациентов с установленной сердечной недостаточностью (СН). Chand S. и соавт. [9] исследовали 140 пациентов, которым проводились магнитно-резонансная томография (МРТ) сердца и тканевая доплеровская эхокардиография. В рамках двух клинических испытаний выявлено, что наличие Glu298Asp rs1799983 полиморфизма гена eNOS является существенным фактором риска прогрессирования хронической почечной недостаточности (ХПН) среди пациентов с установленной СН.

В противоположность вышеприведенным данным, Ihan N. и соавт. [10] изучили Glu298Asp полиморфизм гена eNOS и эндотелиальную дисфункцию у пациентов с терминальной стадией ХПН (ТСХПН) и без нее. Когда частота генотипов генов TT и GT сравнивалась между обеими группами, не было обнаружено статистически значимого различия, даже если частота генотипа TT составляла 27 (20,8%) против 17 (26,6%), частота обнаружения генотипа гетерозигот GT была 52 (40%) против 22 (34,4%), а частоту генотипа гомозиготы GG находили между 51 (39,2%) и 25 (39,1%) соответственно ( $p > 0,05$ ). Связи между Glu298Asp полиморфизмом гена eNOS и ТСХПН в исследуемых группах пациентов при различных методах диализа также не наблюдалось.

Полиморфизм гена eNOS и его гаплотипы не были связаны с ТСХПН и в работе Marson В.Р. и соавт. [11]. Они сравнили встречаемость генотипов и гаплотипы трех соответствующих полиморфизмов гена eNOS (T (-786) C в промоторной области, Glu298Asp в экзоне 7 и 4b / 4a в интроне 4) у 110 здоровых и 127 пациентов с ТСХПН. При этом группы обследованных существенно не различались по возрасту, этнической принадлежности и полу. Проведенный авторами анализ показал отсутствие значимых ассоциаций между полиморфизмами гена eNOS и

ТСХПН, т.е. полиморфизмы гена eNOS не имели отношения к генетическому компоненту ХЗП.

Sener E.F. и соавт. [12] подвергли анализу взаимосвязь тромбоза артериовенозных фистул (АВФ) и полиморфизмов интрона 4 и G894T гена eNOS при ХПН. В исследовании принимали участие 79 пациентов с ХПН, которые были разделены на 2 группы: 49 без тромбоза и 30 человек с тромбозом АВФ. При этом авторами была продемонстрирована ассоциация между полиморфизмом интрона 4 гена eNOS и тромбозом АВФ у пациентов с ХПН, где связь между генотипами интрона 4b / b eNOS составила 98% и 56,7% в соответствующих группах ( $p < 0,05$ ).

В 2014 году были опубликованы результаты мета - анализа, включавшего 16 статей (2729 пациентов и 2190 контрольных лиц для 4b / a полиморфизма, 851 пациента и 1171 контроля для G894T полиморфизма, а также 513 опытных и 487 из группы сравнения для T786C полиморфизма) [13], посвященные оценке связи полиморфизма гена эндотелиальной NO синтазы с ТСХПН. Вышеприведенные данные свидетельствовали о том, что полиморфизмы 4 b/a и G894T в гене eNOS ассоциированы с ТСХПН, а носительство аллелей 4a и T предрасполагают к риску развития ХПН в общей популяции.

Gao J. и соавт. [14] в своем исследовании изучили взаимосвязь полиморфизма гена eNOS и IgA – нефропатии у китайской популяции. С северо-западного Китая был набран 351 пациент с IgA – нефропатией, а 310 человек составили контрольную группу. Было обнаружено, что полиморфизм rs1799983 был связан с уменьшением шанса развития IgA-нефропатии. Анализ гаплотипов показал, что аллельный вариант Trs1799983Crs2070744 является защитным фактором против IgA – нефропатии (OR = 0,62,95% CI = 0,42-0,92). Полиморфизм гена eNOS rs1799983 и гаплотип Trs1799983Crs2070744 могут снизить вероятность развития IgA – нефропатии среди китайской популяции.

Исследование Li X. и соавт. [15] показало взаимосвязь между риском развития волчаночной нефропатии и последовательными вариациями как гена АПФ (A - 5466 C, T - 3892 C, A-240T, C1237T, G2215A и A2350G), так и гена eNOS (T-786C и G894T) в китайской популяции.

Kerkeni M. и соавт. [16] изучили взаимоотношение полиморфизма генов eNOS и метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) с наличием и тяжестью ХЗП у тунисских пациентов с

сердечно - сосудистыми заболеваниями (ССЗ). Полиморфизмы MTHFR C677T и A1298C не сопровождалась заболеваниями почек. Однако, полиморфизм eNOS G894T ассоциирован наличием и тяжестью ХЗП у пациентов с ССЗ.

Zintzaras E. et al. опубликовали результаты метаанализа по отношению полиморфизмов гена eNOS (G894T (Glu289Asp), 4b/a, T-786C) с сахарным диабетом (СД) и диабетической нефропатией (ДН), которые показали, что G894 T полиморфизм весомо влиял на возникновение выраженной ДН у лиц с СД 2 типа в Восточной Азии [17].

El-Din Bessa S.S. et al. [18] изучили воздействие полиморфизма Glu298Asp гена eNOS на развитие ТСХПН у египетских пациентов с СД 2-го типа. Исследование включало 80 пациентов с СД 2-го типа с продолжительностью более 10 лет и 20 здоровых. Результаты показали, что TT-генотип гена eNOS может предрасполагать к повышению риска развития ХПН у египетских диабетиков 2-го типа.

В 2014 году проведено изучение эффекта полиморфизмов гена eNOS интрон 4 и рецептора ангиотензина II типа 1 и 2 на прогноз почечного аллотрансплантата [19]. Обследовали 106 пациентов, из них 71 мужчина и 35 женщин, которым была проведена ренальная трансплантация и оценивались развития интерстициального фиброза и канальцевой атрофии, а также выживаемость трансплантата в течение трех и пяти лет. У пациентов с bb-аллелем интрона 4 гена eNOS в течение трех лет была низкая частота посттрансплантационных событий (12,6% и 38,5%,  $p=0,005$ ) и в течение пяти лет интерстициального фиброза и канальцевой атрофии, (46,6% и 82,3% соответственно,  $p=0,02$ ), а также регистрировался более низкий уровень 5-летнего отторжения трансплантата (35,4% и 55,6% соответственно,  $p<0,005$ ).

Однако, Аксау А. и соавт. [20] предоставили данные об ассоциации генетических полиморфизмов ренин – ангиотензиновой системы и эндотелиальной синтазы оксида азота с хронической почечной трансплантационной дисфункцией (ХПТД). Также они изучили (исследовали) значимость полиморфизмов генов ангиотензин - превращающего фермента (АПФ), ангиотензиногена, рецептора ангиотензина II типа 1 и 2 и eNOS на инициацию ХПТД. При этом генотипирование проводили у 125 пациентов, перенесших трансплантацию почек, для полиморфизмов ACE I / D, AGT M235T, ATR1 A1166C,

ATR2 C3123A и eNOS intron 4a / b. Соотношения генотипов были для: АПФ II / ID / DD 12%, 33,6%, 54,4%; ангиотензиногена MM / MT / TT 33%, 65,2%, 1,9%; рецепторов ангиотензина II типа 1 AA / AC / CC 68,6%, 30,7%, 0,7% и типа 2 CC / CA / AA 57,9%, 27,5%, 14,4%, а для eNOS aa / ab / bb 6,4%, 22%, 71,6%, соответственно. Таким образом, полученные данные свидетельствовали о том, что DD-вариант полиморфизма гена АПФ связан с повышенным риском развития ХПТД. В то же время на функцию трансплантата не влияли полиморфизмы генов ангиотензиногена, рецептора ангиотензина II типа 1 и 2 и eNOS.

Azarpira N. и соавт. [21] изучили эффект одонуклеотидного полиморфизма T-786C (rs 2070744) в гене eNOS на возможность острого отторжения почек у пациентов после трансплантации. В исследование было включено 60 реципиентов почек (30 с эпизодами острой потери и 30 без потери) в период 2008 - 2010 гг. Распределение генотипов TT / TC / CC в группах с гибелью и без гибели почек составило 60%, 33,4%, 6,6% и 43%, 46,7%, 13,3%, соответственно, ( $p = 0,28$ ). Частота T - аллеля встретилось в 76,7% и 66,3%, а C - аллеля в 66,6% и 33,3% среди лиц с отторжением и без отторжения почек, соответственно, ( $p=0,09$ ). Между этими полиморфизмами и острым и хроническим отторжением аллотрансплантата почки не было никаких явных ассоциаций. Не было **выявлено** существенной корреляции между полиморфизмом в T-786C гена eNOS и появлением острой потери почек.

Данные Хуе А. и соавт. [22] о действии полиморфизма гена eNOS на прогрессирование ХПН при аутосомно - доминантном поликистозном заболевании почек (АДПЗП) показали, что носители GG генотип варианта Glu298Asp гена eNOS характеризовались медленным прогрессированием почечной недостаточности, в то время как у людей с аллелями варианта 4b / a был повышен риск возникновения ХПН.

Аддитивный эффект полиморфизмов гена eNOS на *атеросклероз* у больных на программном гемодиализе изучили Spoto B. et al. [23]. Они проверили взаимосвязь между толщиной интима-медиа (ТИМ) сонных артерий и тремя полиморфизмами eNOS (G894T, T-786C и 27 - bp повторением в интроне 4) среди этнически и географически однородной группы из 147 пациентов с ХПН. ТИМ сонных артерий была значительно больше ( $P = 0,01$ ) у пациентов с генотипом TT (полиморфизм G894T), чем у пациентов

с генотипами TG или GG, и аналогичная ассоциация наблюдалась для полиморфизма T-786C ( $P = 0,02$ ). Таким образом, у пациентов на гемодиализе полиморфизмы G894T и T-786C гена eNOS предрасполагают к атеросклерозу сонных артерий.

Учитывая большую значимость возникновения ренокардиального синдрома, особое внимание уделяется выявлению влияния полиморфизма eNOS на выраженность кардиоренальных нарушений. Так, наличие аллельного варианта 894G>T eNOS3 изучалось у 311 пациента с различной стадией нефропатии в течение 38 месяцев. При этом оценивали три конечные точки: прогрессирование ДН, большие сердечно-сосудистые события и все случаи смерти за время наблюдения. Оказалось, что наличие генотипа 894G>T eNOS3 является существенным фактором риска не только прогрессирования ДН (ОШ = 1,843), но и больших сердечно-сосудистых событий (ОШ = 2,515) [24].

Таким образом, анализ данных литературы свидетельствует о том, что NO является важнейшим регулятором сосудистого гомеостаза, а определенные геномные фенотипы и соответствующие функциональные изменения эндотелия могут дать информацию о возможности оптимального терапевтического воздействия в каждом конкретном случае, что создает широкие перспективы для дальнейших исследований.

#### Литература:

1. Furchgott R.F., Zawadzki J.V. The obligatory role of endothelial cells in relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373-376.
2. Северина И.С., Буссыгина О.Г., Пятакова Н.В. Активация растворимой гуанилатциклазы новыми донорами NO как основа направленного поиска новых эффективных вазодилататоров и антиагрегантов. *Вестн. АМН Украины* 2000; 3: 25-30.
3. Реутов В.П. Медико-биологические аспекты циклов оксид азота и супероксидного анионрадикала. *Вестник АМН Украины*, 2000; 3: 35-41.
4. Шляхто Е.В., Беркович О.А., Беляева О.Д. и др. Современные представления о дисфункции эндотелия и методах ее коррекции при атеросклерозе. *Кардиология* 2002. 3: 9-13.
5. Andrew P.J., Mayer B. Enzymatic function of nitric oxide synthases. *Cardiovasc. Res.* 1999. 43: 521-531.
6. Pechkovsky D.V., Zissel G., Goldmann T. et al. Pattern of NOS2 and NOS3 mRNA expression in human A549 cells and primary cultured AEC II. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2002; 282(4): 684-92.
7. Недоспасов А.А., Беда Н.В. Биогенные оксиды азота. *Природа*. - 2005; 7: 35-42.

8. Кравченко Н.А., Ярмыш Н.В. Регуляция экспрессии эндотелиальной NO-синтазы и дисфункция сосудистого эндотелия при сердечно-сосудистой патологии. *Цитология и генетика* 2008; 42(4): 69-80.
9. Chand S., Chue C.D., Edwards N.C. et al. Endothelial nitric oxide synthase single nucleotide polymorphism and left ventricular function in early chronic kidney disease. *PLOS ONE* 2015; 22(10): 1-10.
1. Ilhan N., Ates K., Ilhan N. et al. eNOS Glu 298 Asp Polymorphism and Endothelial Dysfunction in Patients with and without End-stage Renal Disease. *Balkan Med J.* 2016; 33(2): 128-37.
10. Marson B.P., Dickel S., Ishizawa M.H. et al. Endothelial nitric oxide genotypes and haplotypes are not associated with end-stage renal disease. *DNA Cell Biol.* 2011; 30(1): 55-9.
11. Sener E.F., Emiroğulları Ö.N., Serhatlıoğlu F. et al. The role of endothelial nitric oxide synthase gene G894T and intron 4 VNTR polymorphisms in hemodialysis patients with vascular access thrombosis. *Anadolu Kardiyol Derg.* 2014; 14(3): 239 - 43.
12. Yun Z., Yu-Ping Y., Zong-Wu T. et al. Association of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms with end-stage renal disease: a systematic review and meta-analysis. *Ren Fail.* 2014; 36(6): 987 - 93.
13. Gao J., Wang M., Wei L. et al. The Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphism is Associated with the Susceptibility to Immunoglobulin A Nephropathy in Chinese Population. *Kidney Blood Press Res.* 2017; 42 (3): 608 - 616.
14. Li X., An J., Guo R. et al. Association of the genetic polymorphisms of the ACE gene and the eNOS gene with lupus nephropathy in northern Chinese population. *BMC Med Genet.* 2010; 11: 94.
15. Kerkeni M., Letaief A., Achour A. et al. Endothelial nitric oxide synthetase, methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms, and cardiovascular complications in Tunisian patients with nondiabetic renal disease. *Clin Biochem.* 2009; 42(10-11): 958-64.
16. Zintzaras E., Papathanasiou A.A., Stefanidis I. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and diabetic nephropathy: a HuGE review and meta-analysis. *Genet. Med.* 2009; 11 (10): 695-706.
17. El-Din Bessa S.S., Hamdy S.M. Impact of nitric oxide synthase Glu298Asp polymorphism on the development of end-stage renal disease in type 2 diabetic Egyptian patients. *Ren Fail.* 2011; 33 (9): 878-84.
18. Uyar M., Sezer S., Ozdemir F.N. et al. Endothelial nitric oxide synthase polymorphism influences renal allograft outcome. *Clin Transplant.* 2014 28(2): 223-8.
19. Akcay A., Sezer S., Ozdemir F.N. et al. Association of the genetic polymorphisms of the renin-angiotensin system and endothelial nitric oxide synthase with chronic renal transplant dysfunction. *Transplantation* 2004; 78(6): 892-8.
20. Azarpira N., Geramizadeh B., Nikeghbalian S. et al Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene T-786C Polymorphism in Renal Transplant Recipients. *Int J Organ Transplant Med.* 2011; 2(2): 87-92.
21. Xue C., Zhou C.C., Sun L.J. et al. Effects of endothelial nitric oxide synthase gene on end stage renal disease progression in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nephrology (Carlton)* 2014; 19(10): 630-7.
22. Spoto B., Benedetto F.A., Testa A. et al An additive effect of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms contributes to the of atherosclerosis in patients on dialysis. *Am J Hypertens.* 2007; 20(7): 758-63.
23. Kuricova K., Tanhauserova V., Pacal L. et al. NOS3 894 G> T polymorphism is associated with progression of kidney disease and cardiovascular morbidity in type 2 diabetic patients: NOS 3 as modifier gene for diabetic nephropathy? *Kidney Blood Press Res.* 2013; 38(1): 92-98.

**Рецензент: к.м.н., доцент Ибрагимов А.А.**