

Abstract

O. P. Bukach,

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University", 2 Teatralna Sq, 58002 Chernivtsi, Ukraine

ASSOCIATION OF T-786C POLYMORPHISM OF THE ENDOTHELIAL NITRIC OXIDE SYNTHASE GENE WITH RHEUMATOID ARTHRITIS IN COMBINATION WITH OBESITY, DIABETES MELLITUS TYPE 2 AND ARTERIAL HYPERTENSION

Introduction. A high level of cardiovascular comorbidity, especially in disease, is the most significant predictor of premature death of patients with RA. The role of polymorphisms of T-786C in the promoter of eNOS gene in the formation of RA and its most frequent concatenating diseases – DM, AO and hypertension, and complications of RA in the existing literature is limited and existing data are contradictory and related to individual diseases and their pathogenetic mechanisms [12, 22]. Therefore, we have analyzed the frequencies of alleles and genotypes of T-786C polymorphism of the gene endothelial nitric oxide synthase (eNOS) in patients with rheumatoid arthritis (RA) in combination with abdominal obesity (AO), arterial hypertension (AH) and diabetes mellitus type 2 (DM2).

Material and Methods. The study involved 60 patients with rheumatoid arthritis (RA), and 20 healthy individuals. The average patient age was (of 48.03 ± 14.91). The disease duration ranged from 1 to 32 years (of 12.17 ± 8.83). Study of gene polymorphism T-786C eNOS was performed by polymerase chain reaction (PCR). Statistical processing of results was carried out using computer programs Microsoft Excel 2007 and IBM SPSS Statistics® 23.0.

Results. It was found that among patients with RA with concomitant hypertension I And II degree, often registered in carriers of the favorable T allele of eNOS gene (T-786C): for AG I 5.67 times ($p < 0.001$), while AG II – 8.67 times ($p < 0.001$), respectively. A clear dependence of the changes of body weight, severity of obesity, and frequency of occurrence to separately and polymarble pathology in General (AO, DM2 and hypertension) in patients with RA taking into account the analyzed polymorphic variants of the gene are not established. The nature of allelic distribution of the T-786C polymorphism of eNOS gene in the population as a whole is dominated by the wild T allele over the mutant S-allele (65,0 % versus 35,0 %; $\chi^2 = 28,80$; $p < 0.001$) in patients with RA – 35.0 % [OR = TO 4.31, 95 % CI = 2,51-7,40, $p < 0.001$], control 15.0 % ($p > 0.05$) with a significant excess of heterozygosity ($F = -0,33$; $\chi^2 = 4,49$; $p = 0,034$), which, however, overlaps the normal distribution in the experimental group and in General does not violate the expected population equilibrium Hardy-Weinberg.

Keywords: rheumatoid arthritis, abdominal obesity, arterial hypertension, diabetes mellitus type 2, gene T-786C eNOS, polymorphism.

Corresponding author: Bukach06@gmail.com

Резюме**О. П. Букач,**

ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», Театральна площа, 2, м. Чернівці, 58000, Україна

АСОЦІАЦІЯ Т-786С ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ОКСИДУ АЗОТУ СИНТАЗИ ІЗ РЕВМАТОЇДНИМ АРТРИТОМ У ПОЄДНАННІ З ОЖИРІННЯМ, ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ ТИПУ 2 ТА АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ

Проаналізовано частоти алелей і генотипів Т-786С поліморфізму гена ендотеліальної оксиду азоту синтази (eNOS) у хворих на ревматоїдний артрит (РА) у поєднанні з абдомінальним ожирінням (АО), артеріальною гіпертензією (АГ) та цукровим діабетом типу 2 (ЦД2). У дослідженні взяло участь 60 хворих на ревматоїдний артрит (РА) та 20 практично здорових осіб. Дослідження поліморфізму гена Т-786С eNOS виконали методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Встановлено, що серед хворих на РА супутня АГ I і II ступенів частіше реєструється у носіїв сприятливого Т-алеля гена eNOS (Т-786С): за АГ I – у 5,67 разів ($p < 0,001$), за АГ II – у 8,67 разів ($p < 0,001$) відповідно. Чіткої залежності зміни маси тіла, тяжкості ожиріння, а також частоти зустрічання окремо ко- та поліморбідної патології загалом (АО, ЦД2 та АГ) у хворих на РА з урахуванням поліморфних варіантів аналізованого гена не встановили. За характером алельного розподілу Т-786С поліморфізму гена eNOS у популяції загалом домінує дикий Т-алель над мутантним С-алелем (65,0 % проти 35,0 %; $\chi^2 = 28,80$; $p < 0,001$): у хворих на РА – на 35,0 % [ВШ = 4,31, 95 % ДІ = 2,51-7,40, $p < 0,001$], у контролі – на 15,0 % ($p > 0,05$) із вірогідним надлишком гетерозиготності ($F = 0,33$; $\chi^2 = 4,49$; $p = 0,034$), що, однак, перебивається нормальним розподілом у дослідній групі і загалом не порушує очікуваної популяційної рівноваги Hardy-Weinberg.

Ключові слова: ревматоїдний артрит, абдомінальне ожиріння, артеріальна гіпертензія, цукровий діабет типу 2, ген Т-786С eNOS, поліморфізм.

Резюме**О. П. Букач,**

ВДНЗУ України «Буковинський державний медичний університет», Театральна площа, 2, г. Черновці, 58000, Україна

АСОЦІАЦІЯ Т-786С ПОЛІМОРФІЗМА ГЕНА ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ОКСИДА АЗОТА СИНТАЗИ С РЕВМАТОЇДНИМ АРТРИТОМ В СОЧЕТАННІ С ОЖИРІННЯМ, САХАРНИМ ДІАБЕТОМ ТИПУ 2 І АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ

Проаналізовані частоти алелей і генотипів Т-786С поліморфізму гена ендотеліальної оксиду азоту синтази (eNOS) у хворих на ревматоїдний артрит (РА) в поєднанні з абдомінальним ожирінням (АО), артеріальною гіпертензією (АГ) та цукровим діабетом типу 2 (СД2). В дослідженні прийняло участь 60 хворих на ревматоїдний артрит (РА) та 20 практично здорових осіб. Дослідження поліморфізму гена Т-786С eNOS виконали методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Встановлено, що серед хворих на РА супутня АГ I і II ступенів частіше реєструється у носіїв сприятливого Т-алеля гена eNOS (Т-786С): за АГ I – у 5,67 разів ($p < 0,001$), за АГ II – у 8,67 разів ($p < 0,001$) відповідно. Чіткої залежності зміни маси тіла, тяжкості ожиріння, а також частоти зустрічання окремо ко- та поліморбідної патології загалом (АО, СД2 та АГ) у хворих на РА з урахуванням поліморфних варіантів аналізованого гена не встановили.



ли. По характеру аллельного распределения T-786C полиморфизма гена eNOS в популяции в целом доминирует дикий T-аллель над мутантным C-аллелью (65,0 % против 35,0 %; $\chi^2 = 28,80$; $p < 0,001$) у больных РА – на 35,0 % [ОШ = 4,31, 95 % ДИ = 2,51–7,40, $p < 0,001$], в контроле – на 15,0 % ($p > 0,05$) с достоверным избытком гетерозиготности ($F = -0,33$; $\chi^2 = 4,49$; $p = 0,034$), что, однако, перекрывается нормальным распределением в опытной группе и в целом не нарушает ожидаемой популяционной равновесия Hardy-Weinberg.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, абдоминальное ожирение, артериальная гипертензия, сахарный диабет типа 2, ген T-786C eNOS, полиморфизм.

Автор, відповідальний за листування: Bukach06@gmail.com

Вступ

Генетичні чинники у взаємодії з навколишнім середовищем та стилем життя індивіда відіграють важливу роль у зміні генної експресії та клінічній реалізації успадкованої, чи набутої патології у т.ч. мультифакторної [1, 3, 5, 6, 10, 19]. Саме тому, вивчення генетичних мутацій та їх асоціації з певною патологією набуває сьогодні важливого значення не тільки з наукової точки зору, але і для практичної охорони здоров'я.

Необхідно зауважити, що найчастішою причиною смерті населення в економічно розвинених країнах є серцево-судинні захворювання (ССЗ): (ішемічна хвороба серця (ІХС), інфаркт міокарда (ІМ), атеросклероз, мозкові інсульти). І якщо ІМ є частою причиною передчасної смерті серед людей у віці до 55 років [4, 11, 16], то високий рівень серцево-судинної коморбідності, особливо за ІХС, є найбільш значущим предиктором передчасної смерті хворих на РА [20, 21].

Упродовж останнього десятиріччя значна увага приділяється вивченню метаболізму оксиду азоту (NO) в патогенезі ревматичних захворювань [25]. У хворих на РА NO сприяє імунному захисту організму, виконуючи роль імунорегулятора, а у високих концентраціях також проявляє цитотоксичну дію, яка ускладнює різноманітні прояви аутоімунного характеру [2]. Синтез NO-синтази залежить від активності та кількості ферменту eNOS, що своєю чергою зумовлено і генетичними чинниками. Серед 453 алельних варіантів цього гена (за даними бази NCBI) одним із найбільш вивченим і функціонально пов'язаним є наступний поліморфізм: T-786C ген eNOS, який локалізований у 7-й хромосомі (7q 35-36), складається з 26 екзонів, охоплює 26 кіло основ і кодує мРНК із 4052 нуклеотидів [5, 7, 14, 18]. Саме T-786C функціональ-

ний поліморфізм у промоторному регіоні пов'язаний зі зменшенням eNOS експресії, асоціює з раннім розвитком ІХС у гомозиготних особин [15,22], діабетичною нефропатією [8], АГ і коронарним артеріальним спазмом [23], із вищою серцево-судинною захворюваністю і смертністю [9].

Однак, роль поліморфізму T-786C промотора гена eNOS у формуванні РА та його найбільш частих конкомітантних захворювань – ЦД, АО та АГ, а також ускладнень РА у наявних джерелах літератури обмежені, а наявні дані суперечливі і стосуються окремих нозологій та їх патогенетичних ланок [13, 24]. Тому вивчення генетичних аспектів розвитку поліморфідності за РА є досить актуальним питанням сьогодення.

Мета дослідження – визначити частоти алелей і генотипів T-786C поліморфізму гена eNOS у хворих на РА у поєднанні з АГ, ожирінням та ЦД 2 типу.

Матеріал і методи дослідження

У ході дослідження було обстежено 120 хворих на РА, які перебували на стаціонарному лікуванні в ревматологічному відділенні КМУ «Чернівецька обласна клінічна лікарня», КМУ «Міська клінічна лікарня №3» та обласному ендокринологічному диспансері м. Чернівці. Встановлення і верифікація клінічного діагнозу РА проводилась згідно з критеріями EULAR 2010 [17]. Постановка діагнозів коморбідних захворювань здійснювалась згідно з відповідними настановами та наказами Міністерства охорони здоров'я (МОЗ) України. Дослідження проводили з дотриманням основних положень GCP (1996), Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину, Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи виконання наукових медичних досліджень



за участю людини і Наказу МОЗ України №690 від 23.09.2009 р., № 616 від 03.08.2012 р. Етап скринінгу пройшло 60 хворих (основна група) на ревматоїдний артрит із АГ, АО та ЦД 2 за наявної інформованої згоди пацієнта про участь у дослідженнях та 20 практично здорових осіб (контрольна група). Середній вік пацієнта склав $(48,03 \pm 14,91)$ років. Тривалість захворювання коливалась від 1 до 32 років $(12,17 \pm 8,83)$.

Дослідження T-786C поліморфізму гена eNOS проводили із застосуванням методу ПЛР у державному закладі «Референс-центр» з молекулярної діагностики МОЗ України (м. Київ). Геному ДНК для молекулярно-генетичного дослідження виділяли з периферійної крові за допомогою комерційної тест-системи «inpuPREP Blood DNA Mini Kit» (Analytik Jena, Німеччина) з використанням центрифужних фільтрів. Для визначення поліморфних варіантів гена eNOS (T-786C) (rs2070744) [12] використовували модифіковані протоколи з олігонуклеотидними праймерами та наступним аналізом поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів (ПДРФ). Досліджувані ділянки генів ампліфікували за допомогою специфічних праймерів («Metabion», Німеччина) (прямого 5'-TGGAGAGTGCTGGTGTACCCA-3' та зворотного 5' GCCTCCACCCCCACCTGTC-3'.

Після чого продукти ампліфікації фрагментів ДНК гена eNOS (T-786C) підлягали гідролітичному розщепленню за допомогою ендонуклеази рестрикції MspI FastDigest («Thermo Scientific», США), які аналізували в 4 % агарозному гелі (агароза фірми «Cleaver Scientific», Великобританія) з додаванням бромистого етидію та подальшою візуалізацією за допомогою трансільюмінатора, а отримане зображення обробляли в комп'ютерній програмі Vitran (рис. 1).

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою комп'ютерних програм Microsoft Exel 2007 та IBM SPSS Statistics® 23.0. Відмінність у розподілі генотипів T-786C поліморфізму гена eNOS у групі контролю та хворих та відповідність розподілу генотипів до закону Hardy-Weinberg була перевірена за допомогою тесту хі-квадрат із 2 ступенями свободи, а у контрольній – за допомогою тесту хі-квадрат із 1 ступенем свободи, без використання корекції Йетса. Вплив чинників на розвиток РА оцінювали за величиною відношення ризиків (BP) і відношенням шансів (ВШ) із довірчим інтервалом (СІ) 95 % з урахуванням критерію χ^2 (df = 1). Різницю вважали вірогідною при $p < 0,05$.

Таблиця 1 – Частоти генотипів T-786C поліморфізму гена eNOS у хворих на ревматоїдний артрит

№	Генотипи гена eNOS	Групи дослідження, n = 80		ВШ [95% СІ]	χ^2 р
		Хворі, n = 60 (%)	Контроль, n = 20 (%)		
1	TT-генотип, n = 34 (%)	29 (48,33)	5 (25,0)	2,81 [0,91-8,70]	$\chi^2 = 3,34$ p = 0,067
2	TC-генотип n = 36 (%)	23 (38,33)	13 (65,0)	2,99 [1,04-8,59]	$\chi^2 = 4,31$ p = 0,038
3	CC-генотип, n = 10 (%)	8 (13,33)	2 (10,0)	1,38 [0,27-7,14]	$\chi^2 < 1,0$ p > 0,05
ВШ [95% СІ] TT-генотип проти TC; χ^2 р		1,59 [0,73-3,45] $\chi^2 = 1,38$ p > 0,05	0,15 [0,03-0,64] $\chi^2 = 7,11$ p = 0,008	-	-
ВШ [95% СІ] TT-генотип проти CC; χ^2 р		13,14 [4,34-39,75] $\chi^2 = 23,84$ p < 0,001	6,25 [0,61-63,54] $\chi^2 < 1,0$ p > 0,05	-	-
ВШ [95% СІ] TC-генотип проти CC; χ^2 р		8,27 [2,65-25,79] $\chi^2 = 14,52$ p < 0,001	42,25 [5,15-148,9] $\chi^2 = 16,13$ p < 0,001	-	-
Вірогідність кодо-мінантної моделі ВШ [95% ДІ] χ^2 ; р		9,0 [4,40-18,41] $\chi^2 = 40,0$; p < 0,001		-	-

Примітка. ВШ – відношення шансів; 95% ДІ – довірчий інтервал 95%



Таблиця 2 – Розподіл поліморфних варіантів гена eNOS (rs 2070744) у хворих на ревматоїдний артрит з урахуванням ступеня ожиріння та тяжкості артеріальної гіпертензії

Групи спостереження, n (%)		Генотипи гена eNOS, n (%)			Загалом, n (%)
		TT	TC	CC	
Контроль, n = 20 (%)		5 (25,0)	13 (65,0)	2 (10,0)	20 (100,0)
За масою тіла, n = 60 (%)	N	11 (40,74)	12 (44,44)	4 (14,81)	27 (45,0)
	ОЖ I	17 (58,62)	9 (31,03)	3 (10,34)	29 (48,33)
	ОЖ II, III	1 (25,0)	2 (50,0)	1 (25,0)	4 (6,67)
$\chi^2 p$		$\chi^2 = 2,72$ $p > 0,05$	$\chi^2 = 1,31$ $p > 0,05$	$\chi^2 < 1,0$ $p > 0,05$	$\chi^2 < 1,0$ $p > 0,05$
Тяжкість АГ, n = 60 (%)	АГ I	8 (40,0)	9 (45,0)	3 (15,0)	20 (33,33)
	АГ II	16 (55,17)	10 (34,48)	3 (10,34)	29 (48,33)
	АГ III	4 (36,36)	4 (36,36)	3 (27,27)	11 (18,33)
$\chi^2 p$		$\chi^2 = 1,67$ $p > 0,05$	$\chi^2 < 1,0$ $p > 0,05$	$\chi^2 = 1,79$ $p > 0,05$	$\chi^2 < 1,0$ $p > 0,05$

Таблиця 3 – Розподіл поліморфних варіантів гена eNOS (rs 2070744) у хворих на ревматоїдний артрит з урахуванням коморбідної патології

Групи спостереження, n (%)		Генотипи гена eNOS, n (%)			Загалом, n = 60 (%)
		TT	TC	CC	
Хворі на РА		8 (44,44)	8 (44,44)	2 (11,11)	18 (30,0)
РА+АГ		3 (42,86)	3 (42,86)	1 (14,29)	7 (11,67)
$\chi^2 p_1$		$\chi^2 < 1,0$ $p_1 > 0,05$	$\chi^2 < 1,0$ $p_1 > 0,05$	$\chi^2 < 1,0$ $p_1 > 0,05$	$\chi^2 = 5,05$ $p_1 = 0,025$
РА+АГ+АО		9 (52,94)	7 (41,18)	1 (5,88)	17 (28,33)
$\chi^2 p_1$		$\chi^2 < 1,0$ $p_1 > 0,05$	$\chi^2 < 1,0$ $p_1 > 0,05$	$\chi^2 < 1,0$ $p_1 > 0,05$	$\chi^2 < 1,0$ $p_1 > 0,05$
$\chi^2 p_2$		$\chi^2 < 1,0$ $p_2 > 0,05$	$\chi^2 < 1,0$ $p_2 > 0,05$	$\chi^2 < 1,0$ $p_2 > 0,05$	$\chi^2 = 4,22$ $p_2 = 0,04$
РА+АГ+АО+ЦД		9 (50,0)	5 (27,78)	4 (22,22)	18 (30,0)
$\chi^2 p_1$		$\chi^2 < 1,0$ $p_1 > 0,05$	$\chi^2 < 1,0$ $p_1 > 0,05$	$\chi^2 < 1,0$ $p_1 > 0,05$	$p_1 > 0,05$
$\chi^2 p_2$		$\chi^2 < 1,0$ $p_2 > 0,05$	$\chi^2 < 1,0$ $p_2 > 0,05$	$\chi^2 < 1,0$ $p_2 > 0,05$	$\chi^2 = 5,05$ $p_2 = 0,025$
$\chi^2 p_3$		$\chi^2 < 1,0$ $p_3 > 0,05$	$\chi^2 < 1,0$ $p_3 > 0,05$	$\chi^2 < 1,0$ $p_3 > 0,05$	$\chi^2 < 1,0$ $p_3 > 0,05$

Примітки:

1. РА – ревматоїдний артрит; АГ – артеріальна гіпертензія; АО – абдомінальне ожиріння; ЦД – цукровий діабет.

2. p_1 – вірогідність різниць показників порівняно із хворими на ревматоїдний артрит; p_2 – вірогідність різниць показників порівняно із хворими на ревматоїдний артрит і артеріальну гіпертензію; p_3 – вірогідність різниць показників порівняно із хворими на ревматоїдний артрит, артеріальну гіпертензію і абдомінальне ожиріння



Результати та їх обговорення. Відносна частота *T*-алеля гена та *C*-алеля гена *eNOS* у хворих на РА та осіб контрольної груп вірогідно не відрізнялись. Однак *T*-алель у осіб дослідної групи зустрічали частіше, ніж «мінорний» *C*-алель на 35,0 % ($\chi^2 = 29,40$, $p < 0,001$), без статистично значимої різниці у контролі. Загалом у обстеженій популяції із виділених алелей домінував «дикий» *T*-алель над мутантним на 30,0 % ($p < 0,001$).

Розподіл генотипів у групі здорових не відповідає закону Харді-Вайнберга із вірогідним надлишком гетерозиготності ($F = -0,33$; $\chi^2 = 4,49$; $p = 0,034$), що, однак, перекривалось нормальним розподілом у дослідній групі і загалом формувало нормальну популяційну рівновагу без вірогідної різниці між очікуваною на фактичною гетерозиготністю.

Частоти генотипів *T-786C* поліморфізму гена *eNOS* у хворих на РА (ко-домінантна модель успадкування) наведено в таблиці 1. Аналіз засвідчив вірогідну перевагу відносної частоти зустрічання *TC* поліморфного варіанту у групі контролю над таким у хворих – на 26,67 % ($\chi^2 = 4,31$, $p = 0,038$). Також *TC* варіант домінував над несприятливим *CC* генотипом як у групі хворих, так і в контролі: на 25,0 % ($\chi^2 = 14,52$, $p < 0,001$) і 55,0 % ($\chi^2 = 16,13$, $p < 0,001$) відповідно. Серед хворих на РА носіїв диких гомозигот (*TT*) зустрічали частіше, ніж таких із мутантним *CC* варіантом – на 35,0 % ($\chi^2 = 23,84$, $p < 0,001$). А серед практично здорових відносна частота *TC* носіїв переважала над такою зі сприятливим *TT* варіантом – на 40,0 % ($\chi^2 = 7,11$, $p = 0,008$). Ві-

рогідність моделі за інформаційним критерієм Акайке (*AIC*) становить 16,01 (ВШ = 9,0; 95 % ДІ = 4,40-18,41; $\chi^2 = 40,0$; $p < 0,001$).

При розподілі поліморфних варіантів гена *eNOS* (rs 2070744) у хворих на РА з урахуванням ступеня ожиріння (ОЖ) та тяжкості АГ не встановили вірогідних відмінностей (табл. 2). Однак, серед осіб із нормальною, підвищеною масою тіла, а також ОЖ I ступеня носіїв *T*-алеля зустрічали частіше у 5,75 і 8,67 разів, ніж таких із *CC*-генотипом (85,19 % проти 14,81 %; $p < 0,001$; і для ОЖ I – 89,66 % проти 10,34 %; $p < 0,001$, відповідно). Статистично значимої різниці у розподілі пацієнтів залежно від ступенів АГ та генотипів гена *eNOS* також не виявили. Однак, серед хворих на РА та АГ I і II частіше реєстрували носіїв *T*-алеля, ніж *CC*-генотипу: за АГ I – у 5,67 разів (85,0 % проти 15,0 %; $p < 0,001$), за АГ II – у 8,67 разів (89,66 % проти 10,34 %; $p < 0,001$) відповідно, із паритетним співвідношенням за супутньої АГ III ($p > 0,05$).

За розподілом поліморфних варіантів гена *eNOS* (rs 2070744) у хворих на РА з урахуванням ко-, поліморбідної патології було встановлено, що відносна частота осіб у обстеженій нами популяції із поєднанням РА та АГ була вірогідно меншою, ніж таких тільки із РА – на 18,33 % ($\chi^2 = 5,05$; $p = 0,025$), чи РА, АГ та АО – на 16,66 % ($\chi^2 = 4,22$; $p = 0,04$), а також РА, АГ, АО та ЦД – на 18,33 % ($\chi^2 = 5,05$; $p = 0,025$) відповідно (табл. 3). Статистично значимої залежності частоти ко- та поліморбідності у пацієнтів із РА з урахуванням генотипів аналізованого гена не встановили.

Висновки

1. За характером алельного розподілу *T-786C* поліморфізму гена *eNOS* у популяції загалом домінує дикий *T*-алель над мутантним *C*-алелем (65,0 % проти 35,0 %; $\chi^2 = 28,80$; $p < 0,001$): у хворих на РА – на 35,0 % [ВШ = 4,31, 95 % ДІ = 2,51-7,40, $p < 0,001$], у контролі – на 15,0 % ($p > 0,05$) із вірогідним надлишком гетерозиготності ($F = -0,33$; $\chi^2 = 4,49$; $p = 0,034$), що, однак, перекривається нормальним розподілом у дослідній групі і загалом не порушує очікуваної

популяційної рівноваги *Hardy-Weinberg*.

2. Серед хворих на РА супутня АГ I і II ступенів частіше реєструється у носіїв сприятливого *T*-алеля гена *eNOS* (*T-786C*): за АГ I – у 5,67 разів ($p < 0,001$), за АГ II – у 8,67 разів ($p < 0,001$) відповідно. Чіткої залежності зміни маси тіла, тяжкості ожиріння, а також частоти зустрічання окремо ко- та поліморбідної патології загалом (АО, ЦД2 та АГ) у хворих на РА з урахуванням поліморфних варіантів аналізованого гена не встановили.

Перспективи подальших досліджень

Перспективами подальших досліджень полягає у вивченні генетичних аспектів розвитку поліморбідності за РА, що дозволить покращити

прогнозування появи супутньої патології, її ранню діагностику, а також розглянути можливість залежності ефективності лікування з урахуванням генетичних предиктив.



References (список літератури)

1. Baranov VS. Geneticheskij pasport – osnova individualnoj i prediktivnoj mediciny [Genetic passport – the basis of individual and predictive medicine]. Sankt-Peterbur: N-L Publ, 2009. 528 p.
2. Zvyagina TV, Gamanyunov IV, Gubanova EA. [Changes of metabolism of nitric oxide in rheumatic diseases]. *Ukr. revmatol. zhurn.* 2002;3(9):10-15
3. Zaporozhan VM, Bazhora YuI, Krysyun VY. Molekulyarna epidemiolohiya [Molecular epidemiology]. Odesa: ODMU Publ, 2009. 356 p.
4. Derzhavna sluzhba statystyky Ukrainy. Poshyrenist' providnykh khvorob systemy krovoobihu sered dorosloho naseleण्या v Ukraini (2010 rik) [Prevalence of leading diseases of the circulatory system among adults in Ukraine (2010)]. Режим доступу: <http://www.ukrstat.gov.ua/>
5. Dziak HV, Horovenko NH, Kolesnyk TV. [The role of gene polymorphism of angiotensin converting enzyme in the realization of the effect of diurnal profile of arterial pressure on the formation of left ventricular hypertrophy in patients with arterial hypertension]. *Ukr. kardiolog. zhurn.* 2007;6:31-37.
6. Sydorhuk LP. Farmakohenetyka arterialnoi hipertenzii [Pharmacogenetics of hypertension]. Chernivtsi: BDMU Publ, 2010.532 p
7. Lembo G, Luca NDe, Battagli C. A common variant of endothelial nitric oxide synthase (Glu298Asp) is an independent risk factor for carotid atherosclerosis. *Stroke.* 2001;32(3):735–740.
8. Ezzidi I, Mtiraoui N, Mohamed MB. Association of endothelial nitric oxide synthase Glu298Asp, 4b/a, and -786T > C gene variants with diabetic nephropathy. *J. Diabetes Complications.* 2008;22(5):331–338.
9. Doshi AA, Ziolo MT, Wang H. A promoter polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with reduced mRNA and protein expression in failing human myocardium. *J. Card. Fail.* 2010;16(4):314–319.
10. Paynter NP, Chasman DI, Buring JE. Cardiovascular disease risk prediction with and without knowledge of genetic variation at chromosome 9p21.3. *Ann. Intern. Med.* 2009;150:65-72.
11. Choi BJ, Prasad A, Gulati R. Coronary endothelial dysfunction in patients with early coronary artery disease is associated with the increase in intravascular lipid core plaque. *Eur. Heart J.* 2013; 34 (27):2047-2054.
12. Thameem F, Puppala S, Arar NH. Endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) gene polymorphisms and their association with Type 2 diabetes related traits in Mexican Americans. *Diab Vasc Dis Res.* Author manuscript. 2008;5(2):109
13. Raafat II, Shaheen NMH, Yacoub MH. Endothelial nitric oxide synthase (eNOS) genetic polymorphisms among Egyptian systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis patients. *Comp. Clin. Pathol.* 2013;22:617. doi:10.1007/s00580-012-1455-0
14. Salimi S, Firoozrai M, Zand H. Endothelial nitric oxide synthase gene Glu298Asp polymorphism in patients with coronary artery disease. *Ann. Saudi Med.* 2010;30(1):33-7.
15. Colombo MG, Paradossi U, Andreassi MG. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and risk of coronary artery disease. *Clin. Chem.* 2003;49:389–95.
16. Huffman MD, Lloyd-Jones DM, Ning H. Epidemiology and Prevention Quantifying Options for Reducing Coronary Heart Disease Mortality By 2020. *Circulation.* 2013;127:2477-2484.
17. Zhang W, Doherty M, Peat G. EULAR evidence-based recommendations for the diagnosis of knee osteoarthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 2010;69:483–489.
18. Sydorhuk L, Ursuliak Y, Sydorhuk A. Humoral markers of endothelial dysfunction and systemic inflammatory response in patients with acute myocardial infarction depending on genes polymorphism of ACE (I/D) and eNOS (894G > T). *The Pharma Innovation J.* 2015; 3(4):1-10.
19. Dzida G, Sobstyl J, Puźniak A. Impact of the smoking status on the particular genetic polymorphisms associations with cardiovascular diseases. *J. Pre-Clin. Clin. Res.* 2012;6(1):31-34.
20. Boers M, Dijkmans B, Gabriel S. Making an impact on mortality in rheumatoid arthritis: targeting cardiovascular comorbidity. *Arthritis Rheum.* 2004;50:1734–9.



21. Wolfe F, Michaud K, Gefeller O, Choi HK. Predicting mortality in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2003; 48:1530–1542.
22. Rossi GP, Cesari M, Zanchetta M. The T–786C endothelial nitric oxide synthase genotype is a novel risk factor for coronary artery disease in Caucasian patients of the GENICA study. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2003;41:930–937.
23. Hyndman ME, Parsons HG, Verma S. The T–786-- > C mutation in endothelial nitric oxide synthase is associated with hypertension. *Hypertension.* 2002;39(4):919–22.
24. Melchers I, Blaschke S, Hecker M, Cataruzza M. The -786C/T single-nucleotide polymorphism in the promoter of the gene for endothelial nitric oxide synthase: insensitivity to physiologic stimuli as a risk factor for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2006;54 (10):3144-3151.
25. Verbuen A, Clerck LSD, Bridts CH. Influence of blood and synovia fluid immune complexes of patients with rheumatoid arthritis on production of nitric oxide and growth and viability of chondrocytes. *J. Rheumatol.* 2000;1:35–40.

(received 03.02.2017, published online 29.03.2017)

(одержано 03.02.2017, опубліковано 29.03.2017)

