

Комбинации аллелей генов NOS3 и CYBA и риск развития эссенциальной артериальной гипертензии у мужчин

П.И. Макаревич*, Е.Ю. Андреевко, А.В. Балацкий, А.В. Колотвин, Н.О. Попова, Е.Б. Яровая, Л.М. Самоходская, В.А. Ткачук

Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова. Москва, Россия

Combinations of NOS3 and CYBA alleles and essential hypertension risk in men

P.I. Makarevich*, E.Yu. Andreenko, A.V. Balatsky, A.V. Kolotvin, N.O. Popova, E.B. Yarovaia, L.M. Samokhodskaya, V.A. Tkachuk

M.V. Lomonosov Moscow State University. Moscow, Russia

Цель. Оценить роль точечных замен Glu298Asp и C242T и их комбинаций в формировании предрасположенности к развитию эссенциальной артериальной гипертензии (АГ).

Материал и методы. Обследованы 511 мужчин в возрасте 19–61 года: 409 больных с подтвержденным диагнозом АГ — основная группа (ОГ) и группа контроля (ГК) — 102 практически здоровых мужчины без заболеваний сердечно-сосудистой системы (средний возраст $36,2 \pm 5,5$). Для определения аллельных вариантов исследуемых генов использовался метод полимеразной цепной реакции с анализом длины рестрикционных фрагментов.

Результаты. Среди больных ОГ частота мутантного аллеля 298Asp составила 22,8 % vs 24,2 % в ГК ($p > 0,05$). Мутантный аллель 242T встречался в 31,8 % и 37,8 % в ОГ и ГК, соответственно ($p > 0,05$). Анализ сочетаний генотипов показал, что комбинации, в которых количество мутантного аллеля 298Asp выше мутантного аллеля 242T, могут увеличивать риск развития АГ. С использованием бинарной логистической регрессионной модели были определены отношение шансов (ОШ) и доверительные интервалы (ДИ). Значимость модели (p) оценивали с помощью метода максимального правдоподобия. У лиц с комбинациями генотипов с “преобладанием” мутации гена NOS3 повышен риск развития АГ — ОШ=1,55; 95 %ДИ 1,00–2,40 ($p=0,049$). В число неблагоприятных генотипов попали 298Het/242Wt; 298Mut/242Het; 298Mut/242Wt и 298Wt/242Het.

Заключение. Точечные мутации Glu298Asp и C242T не являются значимыми факторами, повышающими риск АГ у мужчин. Однако выявлены комбинации генотипов, которые могут быть неблагоприятными для формирования АГ.

Ключевые слова: артериальная гипертония, полиморфизм, факторы риска.

Aim. To study the role of Glu298Asp and C242T point substitutions and their combinations in the development of essential arterial hypertension (AH).

Material and methods. The study included 511 men aged 19–61 years (mean age $36,2 \pm 5,5$ years): 409 patients with confirmed AH diagnosis (main group, MG), and 102 healthy men without cardiovascular disease (control group, CG). Alleles of interest were identified using polymerase chain reaction and restriction fragment length analysis.

Results. Among AH patients, the prevalence of mutant allele 298Asp was 22,8 %, vs. 24,2 % in the CG ($p > 0,05$). The prevalence of mutant allele 242T was 31,8 % and 37,8 % in MG and CG, respectively ($p > 0,05$). The combinations where mutant allele 298Asp outnumbered mutant allele 242T were shown to increase AH risk. In the binary logistic regression model, AH odds ratio and confidence intervals were calculated. The p value of the model was assessed with maximal likelihood test. In people with “prevalent” NOS3 mutation, AH risk was higher (OR 1,55; 95 %CI 1,00–2,40; $p=0,049$). Adverse genotypes included 298Het/242Wt; 298Mut/242Het; 298Mut/242Wt and 298Wt/242Het.

© Коллектив авторов, 2010

e-mail: pavel.makarevich@gmail.com

Тел.: 8-926-563-05-49

[П. И. Макаревич (*контактное лицо) — аспирант факультета фундаментальной медицины, Е. Ю. Андреевко — аспирант факультета фундаментальной медицины, А. В. Балацкий — ординатор Российского кардиологического научно-производственного комплекса, А. В. Колотвин — аспирант факультета прикладной биотехнологии, Н. О. Попова — студент факультета фундаментальной медицины, Е. Б. Яровая — доцент кафедры теории вероятности механико-математического, Л. М. Самоходская — доцент кафедры медицинской и биологической химии факультета фундаментальной медицины, В. А. Ткачук — декан факультета фундаментальной медицины].

Conclusion. Point mutations of Glu298Asp and C242T did not increase AH risk in men substantially. However, other genotype combinations, associated with increased AH risk, were identified.

Key words: Arterial hypertension, polymorphism, risk factors.

Исследования функции эндотелия и ее регуляции показали, что существует баланс между содержанием мощного вазодилататора — оксида азота (NO) и повреждающих эндотелий активных форм кислорода (АФК). Эта связь реализована через фермент NADPH-оксидазу, состоящую из нескольких субъединиц: p47phox, p67phox, p22phox, Rac и gp91phox или иного гомолога из семейства Nox. Субъединица p22phox необходима для реализации ферментативной активности NADPH-оксидазы, повышение ее активности отмечается при эссенциальной артериальной гипертензии (АГ), гиперхолестеринемии (ГХС) и сахарном диабете (СД) [1]. Активация NADPH-оксидазы приводит к накоплению АФК, которые оказывают неблагоприятное влияние на эндотелий за счет перекисного окисления липидов (ПОЛ), образования пероксинитрита и т.д. [2]. При этом уменьшается выработка NO из-за снижения активности эндотелиальной NO-синтазы (NOS), которая продуцирует NO за счет преобразования L-аргинина. При значительном повышении содержания АФК NO может связываться с супероксидом, образуя повреждающий эндотелий пероксинитрит. Реакция образования пероксинитрита идет в ~ 6 раз быстрее, чем инактивация супероксида под действием супероксид дисмутазы, т. е. равновесие смещено в сторону образования пероксинитрита [3].

Продукция АФК связана и с традиционными факторами риска (ФР): мужской пол, курение, метаболический синдром и др. Известно, что у больных с высоким риском сердечно-сосудистых катастроф повышена активность NADPH-оксидазы [4].

К настоящему времени накоплены данные о том, что однонуклеотидные замены в генах NO-синтазы и p22phox-субъединицы NADPH-оксидазы могут изменять их активность, влияя на сосудистый тонус и развитие атеросклероза. Это наблюдение стало основанием для предположения, что данные полиморфные маркеры могут быть предикторами развития сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), в частности эссенциальной артериальной гипертензии (АГ).

Одним из таких маркеров является полиморфизм Glu298Asp (Q298D) гена эндотелиальной NOS (eNOS), связь которого с развитием эссенциальной АГ исследовалась в популяциях стран Азии и Европы [5,6]. Было отмечено, что у здоровых добровольцев с мутантным генотипом 298AspAsp снижена ацетилхолин-зависимая вазодилатация. Эти изменения обусловлены снижением продукции NO клетками эндотелия, из чего был сделан вывод о подавляющем влиянии этой однонуклеотидной замены

на функцию NOS [7]. В последующих работах указывалось, что среди больных АГ распространенность мутантного аллеля и генотипа 298AspAsp была выше, чем среди здоровых добровольцев [5,6,13].

В ряде европейских популяций обнаружена связь полиморфизма C242T гена CYBA с развитием эссенциальной АГ и атеросклеротического поражения сосудов [8,9]. Ген CYBA кодирует p22phox-субъединицу NADP (H)-оксидазы, а замена C/T в позиции 242 приводит к замене тирозина на гистидин в 72 положении аминокислотной последовательности. При этом, как было показано в исследованиях *in vitro*, у носителей 242T-аллеля активность p22phox была значительно снижена [3]. Этот факт стал основанием для предположения, что носители аллеля 242T имеют меньший риск развития атеросклероза, ишемической болезни сердца (ИБС) и АГ. Однако в исследованиях на больных выяснилось, что T-аллель ассоциирован с развитием у больных АГ, ИБС [9] и острых нарушений мозгового кровообращения (ОНМК) [10]. Исчерпывающего объяснения этого факта нет, однако ассоциация аллеля с развитием ССЗ была выявлена в основном среди больных с дополнительными ФР (курящих, с повышенным уровнем ХС). Выдвинуто предположение о том, что полиморфизм C242T может быть маркером других аллельных вариантов в том же гене (например, в его промоторной области) [3].

Таким образом, к настоящему времени накоплены данные, что однонуклеотидные замены Glu298Asp и C242T могут являться факторами предрасположенности к развитию АГ. С учетом имеющихся в литературе результатов изучалась роль точечных замен в формировании предрасположенности к эссенциальной АГ у мужчин.

Материал и методы

В исследование включены 511 мужчин в возрасте 29—61 года:

Больные (n=409) мужского пола с подтвержденным диагнозом эссенциальной АГ, средний возраст 50,66±9,3 года — основная группа (ОГ).

Группа контроля (ГК) — практически здоровые мужчины (n=102) без сердечно-сосудистой патологии, средний возраст 36,2±5,5.

ГК — выборка лиц, у которых нет признаков АГ на фоне систематических физических и эмоциональных нагрузок, т.е., возможно, являющихся устойчивыми к развитию АГ.

Среди больных АГ 28 (6,8 %) страдали СД, 168 (41,1 %) были курильщиками, у 240 (58,7 %) была выявлена ГХС — общий ХС (ОХС) > 250 мг/дл, у 137 (33,4 %) — дислипидемия (ДЛП), т. е. дополнительные ФР, которые могут вносить вклад в развитие АГ и ИБС.

Таблица 1

Характеристика включенных в исследование больных АГ

Показатель	Частота в группе, %
Продолжительность АГ	
< 1 года	4,7 %
1—5 лет	36,4 %
5—10 лет	22,3 %
> 10 лет	31,2 %
Степень АГ	
I	12,6 %
II	49,8 %
III	37,1 %
ИБС	27,0 %
ХСН	22,1 %
ГЛЖ	53,6 %
Атеросклероз брахиоцефальных артерий	72,8 %

Клиническая характеристика больных АГ приведена в таблице 1.

При обследовании больных использовались стандартные диагностические критерии, анализ результатов лабораторных и инструментальных методов проводили согласно существующим рекомендациям. Гипертрофия миокарда левого желудочка (ГЛЖ) оценивалась по данным ЭКГ с использованием индекса Соколова-Лайона (>38 мм) и по Корнелльскому произведению (>2440 мм·мс) а также по данным эхокардиографии (ЭхоКГ) с оценкой индекса массы миокарда левого желудочка (ИММЛЖ). Диагноз хронической сердечной недостаточности (ХСН) ставился на основании клинических и ультразвуковых признаков — наличия диастолической дисфункции миокарда ЛЖ и снижения фракции выброса (ФВ) ЛЖ (≤ 45 % по Симпсону). Выраженность атеросклеротических изменений оценивалась по данным ультразвукового исследования брахиоцефальных артерий, в ходе которого определялось соотношение толщины комплекса интима/медиа (КИМ). Признаками выраженного атеросклероза считались увеличение соотношения КИМ > 1 мм или наличие крупных атеросклеротических бляшек (АБ).

Генотипирование по однонуклеотидным заменам Glu298Asp и C242T проводилось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с анализом полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ).

Геномная дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) выделялась из цельной ЭДТА-стабилизированной венозной крови фенольным методом. Для амплификации полиморфного участка гена NOS3 использовались следующие праймеры: 5'-GGCTGGACCCCAGG AAAC-3' и 5'-CCACCCAGTCAATCCCTTTG-3'. Праймеры для амплификации полиморфного участка гена CYBA: 5'-CTCTGTGTTGTCTTTCAGTAAAGG-3' и 5'-ACTCACAGGAGATGCAGGACG-3'. В обоих случаях протокол ПЦР был одинаковым. В конечную реакционную смесь объемом 25 мкл входило: 10 мкл ПЦР-смеси, включающей в себя 2 мМ MgCl₂, Taq ДНК-полимеразу и краситель "Крезоловый красный" (AmpliSens Biotechnologies, Москва); 50—100 нг геномной ДНК (1—2 мкл), по 10 пмоль каждого праймера (Sense и Antisense для соответствующего полиморфизма), и по 200 мкМ каждого дНТФ.

ПЦР проводилась в режиме "горячего старта". После первой денатурации при 95°C (5 мин) следовали 30 цик-

лов, каждый из которых включал в себя: денатурацию при 95°C (35 с); отжиг при 61,3°C (30 с) и элонгацию при 72°C (45 с). Последняя элонгация при 72°C (1,5 мин).

Для рестрикции использовались эндонуклеазы фирмы Fermentas "MboI" (Glu298Asp) и "RsaI" (C242T). Реакционная смесь инкубировалась при 37°C в течение 4–5 ч в термостате с перемешиванием. Полученные фрагменты разделялись в 2 % агарозном геле с бромистым этидием.

После рестрикции генотипу CC гена CYBA соответствовали фрагменты длиной 396 и 113 п.о., генотипу CT — 396; 316; 113 и 80 п.о., генотипу TT — 316, 113 и 80 п.о. Генотипам полиморфизма Q298D гена NOS3 соответствовали следующие фрагменты рестрикции: QQ — 152 п.о., QD — 152; 92 и 60 п.о., DD — 92 и 60 п.о.

Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием пакета SPSS 14.0 (SPSS Inc.). Частоты аллелей и генотипов приведены в процентах. Для проверки статистических гипотез об отсутствии отличия частот в группах использовался критерий χ^2 с поправкой Йейтса на непрерывность для таблиц 2х2 и 2х3.

Для построения точечной оценки отношения шансов (ОШ) и 95 %-доверительных интервалов (ДИ) для ОШ применялась модель бинарной логистической регрессии. Значимость регрессии (p) оценивалась с помощью метода максимального правдоподобия. Подробное обсуждение полученных результатов приведено в следующем разделе.

Результаты

Был выполнен анализ распространенности полиморфизма генов NOS3 и CYBA среди больных АГ (n=409) и в ГК (n=102). Полученные в группах частоты аллелей и генотипов сравнивались между собой, а также с данными литературы для оценки генетического профиля больных АГ.

Частота мутантного аллеля 298Asp в ГК составила 24,2 %. В АГ мутантный аллель 298Asp встречался с частотой 22,8 %, что было незначимо меньше, чем в ГК (p=0,77).

Частота аллеля 242T в ГК составила 37,8 %. Среди больных АГ частота мутантного аллеля 242T была незначительно ниже, чем в ГК, и составила

Таблица 2

Частоты генотипов генов NOS3 и CYBA в ОГ и ГК

Полиморфизм	Генотип	Распространенность в ОГ (n=409)	Распространенность в ГК (n=102)	p
Glu298Asp	GluGlu	60,1 %	60,8 %	0,88
	GluAsp	31,5 %	32,3 %	
	AspAsp	8,4 %	6,9 %	
C242T	CC	44,5 %	45,1 %	0,27
	CT	46,7 %	41,2 %	
	TT	8,8 %	13,7 %	

Таблица 3

Предполагаемые значения комбинаций генотипов замен Glu298Asp и C242T

Генотипы по заменам Glu298Asp и C242T		C242T		
		CC (0)	CT (1)	TT (2)
Glu298Asp	QQ (0)	0/0	0/1	0/2
	QD (1)	1/0	1/1	1/2
	DD (2)	2/0	2/1	2/2

Примечание: 0 — дикий тип, 1 — гетерозигота, 2 — мутантный генотип. Курсивом выделены генотипы замены Glu298Asp гена NOS3 (у носителей мутантного аллеля снижена продукция NO), подчеркиванием — замены C242T гена CYBA (у носителей мутантного аллеля понижена активность NADP (H) оксидазы). Выделение цветом — см. пояснения в тексте.

31,8 % (p=0,12). Аналогичные частоты, по данным литературы, наблюдались в ряде исследований, однако в них изучалась роль полиморфизма гена CYBA в развитии атеросклероза и ИБС и была показана протективная роль носительства Т-аллеля в отношении развития поражения коронарных сосудов [14].

При сравнении частот генотипов NOS3 и CYBA (таблица 2) также не было выявлено статистически значимых отличий (p>0,05).

Таким образом, было показано, что среди здоровых лиц распространенность аллелей однонуклеотидных замен Glu298Asp и C242T не отличается от полученных в других исследованиях. Исходя из этого, высказано предположение, что имеющиеся данные о связи однонуклеотидных замен с формированием предрасположенности к АГ могут подтвердиться в российской популяции. Однако при анализе по отдельным полиморфизмам оказалось, что они не являются предикторами развития АГ.

При анализе частот в ОГ больных АГ < 51 года, у которых влияние возрастного фактора на формирование АГ было менее выраженным, также не было отмечено значимых отличий частот аллелей и генотипов, которые могли бы указывать на роль изучаемых однонуклеотидных замен в формировании АГ.

Был выполнен статистический анализ с целью выявления сочетаний генотипов, которые могут влиять на предрасположенность к АГ — повышать ее распространение или, напротив, обладать протективным действием. Все возможные комбинации были представлены в таблице 3х3 (таблица 3). Исходя из данных о физиологическом значении исследуемых однонуклеотидных замен, предположили, что комбинации, где “неблагоприятная”

мутация гена NOS3 “преобладает” над потенциально протективной мутацией гена CYBA, могут повышать риск развития АГ. У людей с такими комбинациями генотипов (в таблице выделено темно-серым) имеется снижение продукции NO эндотелием и базальный уровень продукции супероксид-иона, что предрасполагает к развитию эндотелиальной дисфункции, АГ и ее осложненный — в таблице они выделены темно-серым цветом. Обратное предположение исходило из того, что если “снижающая” активность NADP (H) оксидазы замена C242T “преобладает” над заменой в гене NOS3, то это может оказывать протективное влияние (выделено белым).

Ситуации, когда имеет место “паритет” между двумя полиморфными маркерами, были отнесены к пограничным (диагональ таблицы 3), т. е. их значимость предстояло определить при анализе данных (выделены серым). Следует сразу оговориться, что приведенная модель является в определенной мере условной ввиду невозможности ввести в нее поправку для учета вариабельности экспрессии продукта, “дозы гена” и т. п.

Для удобства обозначений были введены цифровые коды для генотипов (по числу мутантных аллелей): 0 — дикий тип (гомозигота 298QQ или 242CC), 1 — гетерозигота (298QD или 242CT) и 2 — мутант (гомозигота 298DD или 242TT).

Статистически была проверена гипотеза о том, что частоты предполагаемых “благоприятных” и “неблагоприятных” комбинаций в ОГ и ГК не различаются. В ходе анализа данная гипотеза была отвергнута, что указывает на достоверную связь между носительством определенных комбинаций и развитием АГ.

Таблица 4

Частоты комбинаций генотипов NOS3/CYBA среди больных ОГ и ГК

Комбинации	Благоприятные и нейтральные					Неблагоприятные			
	0/2	S	0/0	1/1	2/2	0/1	1/0	2/0	2/1
ОГ	5,9 %	2,4 %	25,4 %	17,7 %	0,5 %	28,8 %	15,4 %	3,7 %	4,2 %
ГК	6,9 %	4,9 %	30,4 %	15,7 %	2,0 %	23,5 %	11,8 %	2,9 %	2,0 %

Примечание: 0 — дикий тип, 1 — гетерозигота, 2 — мутантный генотип. Курсивом выделены генотипы замены Glu298Asp (Q298D) гена NOS3 подчеркиванием — замены C242T гена CYBA

С использованием бинарной логистической регрессионной модели, применяемой к таблице сопряженности 2x2 в пакете SPSS 14.0, вычисляли ОШ и ДИ. Значимость модели (p) оценивали с помощью метода максимального правдоподобия. Критический уровень значимости для всех статистических критериев принимали равным 0,05. Частоты комбинаций генотипов NOS3 и CYBA в группах приведены в таблице 4.

При использовании данной модели оказалось, что у лиц с комбинациями генотипов с “преобладанием” мутации гена NOS3 имеется повышенный риск развития АГ — ОШ=1,55; 95 %ДИ (1,00—2,40), уровень значимости для статистики Вальда составил 0,049. В число неблагоприятных генотипов попали 298Het/242Wt; 298Mut/242Het; 298Mut/242Wt и 298Wt/242Het. “Пограничные” комбинации в данной модели попали в группу протективных или нейтральных, что было подтверждено статистически. Оказалось, что даже при отнесении комбинации 298Wt/242Het (0/1) к неблагоприятным сохраняется статистическая значимость гипотезы.

Обсуждение

В настоящем исследовании оценивались частоты полиморфизма генов NOS3 и CYBA в двух группах, и были получены данные, согласующиеся с имеющимися в литературе. В ГК частота мутантного аллеля гена NOS3 составила 24,2 % vs 29,7 % в работе [12] (p=0,22), а гена CYBA — 37,8 % vs 29,0 % в работе [10] (p=0,27).

Несмотря на убедительные данные о функциональных изменениях, вызываемых полиморфизмом NO-синтазы Glu298Asp, результаты свидетельствуют об отсутствии ассоциации между носительством аллеля 298Asp с развитием АГ. Аналогичные результаты получены в работе, в которой были обследованы 4219 человек [12]. В ней было показано отсутствие ассоциации аллеля 298Asp с повышением систолического и диастолического артериального давления. Таким образом, полученные результаты не подтверждают роль данного полиморфного маркера в развитии АГ, что согласуется с мнением других авторов [12,13].

Полиморфизм C242T является достаточно распространенным среди белых европейцев — частота мутантного аллеля варьирует от 29 % до 47 % [8]. Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии ассоциации Т-аллеля однонуклеотидной замены C242T

гена CYBA с развитием или снижением риска АГ, что противоречит данным литературы [11,14].

Предпринятый анализ полиморфизма генов NOS3 и CYBA позволил выявить 2 вида комбинаций:

Комбинации генотипов, повышающие риск АГ (ОШ=1,55), характеризуются преобладанием аллеля, вызывающего снижение продукции NO. Попадание в их число комбинации дикого типа 298GluGlu и гетерозиготного генотипа 242CT может быть как статистическим артефактом, так и следствием невозможности учесть все взаимодействия в системе NO и NADP (H) оксидазы, на сложность которой указывалось во введении. К ним относятся: 298Het/242Wt; 298Mut/242Het; 298Mut/242Wt и 298Wt/242Het.

Комбинации генотипов, не вызывающие повышения риска или обладающие протективным эффектом — характеризуются “преобладанием” аллеля 242T. Он ассоциирован со снижением активности NADP (H) оксидазы и продукции супероксида. К ним были отнесены “нейтральные” сочетания, а также сочетания генотипов: 298Wt/242Mut; 298Het/242Mut; 298Wt/242Wt; 298Het/242Het; 298Mut/242Mut.

Заключение

В настоящей работе показано, что у обследованных ОГ и ГК отдельные полиморфные маркеры Glu298Asp и C242T не являются значимыми факторами, повышающими риск АГ. Не было также обнаружено зависимости роли одиночных генетических маркеров от возраста обследуемых.

Однако при изучении их сочетаний были выявлены комбинации, которые могут являться неблагоприятными в отношении формирования эссенциальной АГ и те, которые не вызывают повышения риска (ОШ=1,55) или обладают протективным эффектом.

В практическом плане исследование комбинаций генотипов генов NOS3 и CYBA может являться дополнительным фактором при оценке риска развития АГ (особенно у лиц молодого возраста), а также может быть предложено в качестве скринингового метода при оценке наследственной предрасположенности к развитию эссенциальной АГ. Касательно нейтральных и протективных генотипов следует отметить, что, как и любые генетические маркеры такого рода, их влияние в значительной мере зависит от экзогенных ФР, имеющих основное значение.

Литература

1. Leusen JH, Verhoeven AJ, Roos D. Interactions between the components of the human NADPH oxidase: intrigues in the phox family. *J Lab Clin Med* 1996; 128(5): 461—76.
2. Schulz E, Jansen T, Wenzel P, et al. Nitric oxide, tetrahydrobiopterin, oxidative stress, and endothelial dysfunction in hypertension. *Antioxid Redox Signal* 2008; 10(6): 1115—26.
3. Channon KM, Guzik TJ. Mechanisms of superoxide production in human blood vessels: relationship to endothelial dysfunction, clinical and genetic risk factors. *J Physiol Pharmacol* 2002; 53(4 Pt 1): 515—24.
4. Л. Ю. Каминская. А. А. Жлоба, Л. А. Александрова и др. Влияние донатора NO нитрозотиола глутатиона на уровень окислов азота и малонового диальдегида в крови крыс. *Артер гипер* 2005; 11(1): 10—7.
5. Ghazali DM, Rehman A, Rahman AR. Candidate gene polymorphisms and their association with hypertension in Malays. *Clin Chim Acta* 2008; 388(1—2): 46—50.
6. Srivastava K, Narang R, Sreenivas, et al. Association of eNOS Glu298Asp gene polymorphism with essential hypertension in Asian Indians. *Clin Chim Acta* 2008; 387(1—2): 80—3.
7. Godfrey V, Chan SL, Cassidy A, et al. The functional consequence of the Glu298Asp polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene in young healthy volunteers. *Cardiovasc Drug Rev* 2007; 25(3): 280—8.
8. Di Castelnuovo A, Soccio M, Iacoviello L, et al. The C242T polymorphism of the p22phox component of NAD (P) H oxidase and vascular risk. Two case-control studies and a meta-analysis. *Thromb Haemost* 2008; 99(3): 594—601.
9. Moreno MU, San Josй G, Fortuо A, et al. The C242T CYBA polymorphism of NADPH oxidase is associated with essential hypertension. *J Hypertens* 2006; 24(7): 1299—306.
10. Krex D, Ziegler A, Kцnig IR, et al. Polymorphisms of the NADPH oxidase P22PHOX gene in a Caucasian population with intracranial aneurysms. *Cerebrovasc Dis* 2003; 16(4): 363—8.
11. Ito D, Murata M, Watanabe K, et al. C242T polymorphism of NADPH oxidase p22 PHOX gene and ischemic cerebrovascular disease in the Japanese population. *Stroke* 2000; 31(4): 936—9.
12. Wolff B, Grabe HJ, Schlyter C, et al. Endothelial nitric oxide synthase Glu298Asp gene polymorphism, blood pressure and hypertension in a general population sample. *J Hypertens* 2005; 23(7): 1361—6.
13. Karvonen J, Kauma H, Kervinen K, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene Glu298Asp polymorphism and blood pressure, left ventricular mass and carotid artery atherosclerosis in a population-based cohort. *J Intern Med* 2002; 251(2): 102—10.
14. Arca M, Conti B, Montali A, et al. C242T polymorphism of NADPH oxidase p22phox and recurrence of cardiovascular events in coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28(4): 752—7.

Поступила 12/02—2009