

тании здорового и больного человека / В.А. Тутельян, В.Б. Спиричев, Б.П. Суханов [и др.] – М.: Колос, 2002. – 424 с.

Tutelyan V.A. Micronutrients in the diet of healthy and sick individuals / V.A. Tutelyan, V. B. Spirichev, B. P. Sukhanov [et al.] – M.: Kolos, 2002. – 424 p.

15. Beals K.A. Eating behaviors, nutritional status, and menstrual function in elite female adolescent volleyball players // J. Am. Diet. Assoc. – 2002. – Vol. 102, № 9. – P. 1293-1296.

16. Ersoy G. Dietary status and anthropometric assessment of child gymnasts // J. Sports

Med. Phys. Fitness. – 1991. – Vol. 31, № 4. – P. 577-580.

17. Filaire E. nutritional status and body composition of juvenile elite female gymnasts / E. Filaire, G. Lac // J. Sports Med. Phys. Fitness. – 2002. – Vol. 42, № 1. – P. 65-70.

18. Gacek M. Quantitative and qualitative evaluation of group nourishment in 16-18 aged youths in a summer sports camp / M. Gacek, F. Marian // Roczn. Panstw. Zakl. Hig. – 2005. – Vol. 56, № 3. – P. 253-258.

19. Jonnalagadda S.S. Energy and nutrient intakes of the United States National Women's

artistic Gymnastics Team / S.S. Jonnalagadda, D. Bernadot, M. Nelson // Int. J. Sport Nutr. – 1998. – Vol. 8, № 4. – P. 331-344.

20. Kim S.H. Nutritional status, iron-deficiency-related indices, and immunity of female athletes / S.H. Kim, H.Y. Kim, W.K. Kim et al. // Nutrition. – 2002. – Vol. 18, № 1. – P. 86-90.

21. Papadopoulou S.K. Macro- and micro-nutrient intake of adolescent Greek female volleyball players / S.K. Papadopoulou, S.D. Papadopoulou, G.K. Gallos // Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab. – 2002. – Vol. 12, № 1. – P. 73-80.

Н.А. Бебякова, А.А. Куба, Н.А. Фадеева, А.В. Хромова

ВЗАИМОСВЯЗЬ ЭСТРАДИОЛА И ВАЗОАКТИВНЫХ ФАКТОРОВ У ЖЕНЩИН С ВАРИАНТОМ RS 2070744 В ГЕНЕ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ NO-СИНТАЗЫ

DOI 10.25789/YMJ.2022.77.02

УДК 575.174.015.3+577.175.642

Проведено исследование взаимосвязи концентрации эстрадиола с уровнем вазоактивных эндотелиальных факторов (NO, эндотелин-1) у женщин с вариантом T-786C гена eNOS. Установлено, что взаимосвязь эстрадиола и NO, а также высокий уровень индекса периферического сопротивления, превышающий референсное значение, проявляются только при наличии в генотипе мутантного аллеля C полиморфизма T-786C гена eNOS.

Ключевые слова: эстрадиол, оксид азота, эндотелин-1, полиморфизм T-786C гена eNOS.

A study of the relationship between the concentration of estradiol and the level of vasoactive endothelial factors (NO, endothelin-1) in women with the T-786C variant of the eNOS gene was conducted. It was found that the relationship between estradiol and NO, as well as a high level of index of peripheral vascular resistance exceeding the reference value, manifests itself only in the presence of the mutant allele C of the T-786C polymorphism of the eNOS gene in the genotype.

Keywords: oestradiol, nitric oxide, endotheline-1, polymorphism T-786C gene of eNOS.

Введение. В последнее время активно изучаются генетические детерминанты функционирования кардиоваскулярной системы, определяющие запуск механизмов развития патологических состояний, в том числе и эндотелиальной дисфункции (ЭД). При развитии ЭД происходит снижение синтеза оксида азота (NO) и активная локальная секреция эндотелина-1 (ЭТ-1) [1, 17]. Синтез NO в эндотелиоцитах детерминирует ген синтазы оксида азота – eNOS [4]. Описан ряд полиморфизмов данного гена, в том числе T-786C, который

играет определенную роль в развитии ЭД [5, 7, 8].

Экспрессия гена eNOS регулируется различными факторами, к которым относятся и эстрогены. У женщин эстрогены модулируют синтез NO, повышая его концентрацию в крови, через активацию геномного и негеномного механизмов экспрессии гена [9, 10, 13, 14].

Установлено, что уровень эстрогенов влияет на эндотелий-зависимую вазодилатацию у женщин [6]. Однако основные исследования механизмов дисфункции эндотелия, приводящих к сердечно-сосудистым заболеваниям, у женщин проводятся в период менопаузы и постменопаузы, при различных патологических состояниях, хронических заболеваниях эндокринной системы, половой системы, с использованием новых лекарственных препаратов [2, 3], при этом взаимосвязь между женскими половыми гормонами и вазоактивными эндотелиальными факторами у здоровых женщин репродуктивного возраста без выявленной кардиоваскулярной патологии с полиморфизмом в гене эндотелиальной

NO-синтазы остается неизученной.

Цель исследования – установить взаимосвязь эстрадиола и вазоактивных факторов (оксид азота и эндотелин-1) у женщин с полиморфизмом T-786C (rs 2070744) в гене эндотелиальной NO-синтазы в фолликулярную и лютеиновую фазы менструального цикла.

Материал и методы исследования. Объем выборки – 116 женщин, средний возраст которых составил 19,6 года (95% ДИ 18,4 – 22,4), родившихся и проживающих на территории Арктического региона. Критерии включения: женщины с регулярным, устоявшимся, овуляторным (оценен по базальной ректальной температуре), нормопонирующим менструальным циклом. Критерии исключения: женщины, имеющие острые и хронические заболевания, а также принимающие гормональные препараты [11]. Обследование проходило на 5-й-7-й день (фолликулярная фаза) и 19-й-21-й день (лютеиновая фаза) менструального цикла.

Исследование одобрено биоэтическим комитетом Северного медицинского государственного универ-

ФГБОУ ВО «Северный медицинский государственный университет», г. Архангельск: **БЕБЯКОВА Наталья Александровна** – д.б.н., проф., зав. кафедрой, nbebyakova@mail.ru, ORCID 0000-0002-9346-1898; SPIN 6326-5523, **КУБА Анастасия Александровна** – препод.-исследователь, ORCID 0000-0001-5707-1836; SPIN3908-3099, **ФАДЕЕВА Наталья Алексеевна** – препод.-исследователь, ORCID 0000-0001-7588-4929; SPIN 1375-7904, **ХРОМОВА Анна Владимировна** – к.м.н., доцент, декан факультета медико-профилактического дела и медицинской биохимии, ORCID 0000-0001-6440-4061; SPIN 6279-5445.

ситета, г. Архангельск. Все обследованные были обучающимися данного вуза.

Генотипирование полиморфизма T-786C в гене eNOS проводили методом пиросеквенирования (набор «Тоно-скрин» профиль «Артериальная гипертензия»). Гемодинамические исследования проводились утром натощак, использовалась проба с дозированной физической нагрузкой (Мартине-Кушелевского) для оценки функционального состояния кардиоваскулярной системы. Оценка тонуса периферических сосудов осуществлялась при помощи метода тетраполярной реографии по индексу периферического сопротивления (ИПС). Концентрацию NO в сыворотке крови определяли по реакции Грисса (набор «TotalNO/Nitrite/Nitrate», фирма «R&D Systems», США). Уровень эстрадиола в плазме крови определяли иммуноферментным методом (набор «Вектор-Бест», Россия). Анализ содержания в плазме ЭТ-1 проводили иммуноферментным методом (набор «Enzyme immunoassay for the quantitative determination of human endothelin 1-21», фирма «BIOMEDICAGRUPPE», Австрия). Вычислялся индекс соотношения вазодилатор NO/вазоконстриктор ЭТ-1 по концентрации этих факторов в крови. Для обработки полученных результатов применяли пакет прикладных программ SPSS statistics («StatSoft», США).

Результаты и обсуждение. В результате молекулярно-генетического исследования были определены все аллели и генотипы изучаемого полиморфизма гена NOS3, частота которых не отклонялась от закона равновесия Харди-Вайнберга. В результате анализа выявлено, что частота встречаемости аллеля Т - 0,67, а аллеля С – 0,33, при этом установ-

лено, что самым редким вариантом являлся С/С. Такое распределение генотипов и аллелей полиморфного варианта T-786C гена eNOS совпадает с европейскими популяциями [The Al. Lete FREquency Database, 2021, <http://alfred.med.yale.edu>].

По данным литературы, аллель С ассоциирован с гипопродукцией оксида азота, но в данной работе эти результаты не подтверждаются, наоборот, наиболее высокая концентрация оксида азота наблюдалась именно у женщин с генотипом С/С в фолликулярную фазу цикла, по сравнению с женщинами с генотипом Т/Т и С/Т. В лютеиновую фазу уровень оксида азота у женщин с разными генотипами полиморфного варианта T-786C в гене NOS3 был практически одинаков (таблица).

Концентрация ЭТ-1 у женщин с генотипом Т/Т и С/Т была в пределах нормальных показателей в обе фазы цикла, в то время как у женщин с генотипом С/С концентрация ЭТ-1 была выше референсных значений в фолликулярную, а также в лютеиновую фазу, когда концентрация ЭТ-1 превышала нормальные показатели в 2,5 раза (таблица). Высокий уровень ЭТ-1 свидетельствует о дисбалансе вазоактивных эндотелиальных факторов, что подтверждается низким показателем индекса эндотелиальных факторов, который был сдвинут в сторону вазоконстрикторных у девушек с генотипом С/С. ИПС как до дозированной физической нагрузки, так и после неё в обе фазы овариально-менструального цикла у женщин с генотипом Т/Т и С/Т укладывался в показатели нормальных значений, тогда как у женщин с генотипом С/С превышающий референсное значение ИПС (более 90) наблюдался в фолликулярную фазу после нагрузки, а в лютеиновую выявлен как до на-

грузки, так и после нее. Вероятно, развитие дисбаланса эндотелиальных факторов в лютеиновую фазу цикла в данной группе девушек объясняет и более высокий уровень ИПС.

Концентрация эстрадиола у женщин с генотипом Т/Т и С/Т была выше в лютеиновую фазу цикла, тогда как у гомозигот по мутантному аллелю С уровень эстрадиола распределялся по фазам овариально-менструального цикла по-иному – его концентрация в фолликулярную фазу превышала значения концентрации в лютеиновую фазу цикла (таблица).

Анализ корреляционных взаимосвязей между уровнем эстрадиола и уровнем NO показал, что у женщин с генотипом Т/Т между данными показателями не выявлено взаимосвязи, у гетерозигот (генотип С/Т) наблюдалась умеренная корреляционная связь между этими показателями как в фолликулярную ($r=0,302$; $p=0,05$), так и в лютеиновую фазу цикла, а у женщин гомозигот по мутантному аллелю С (генотип С/С) выявлена достаточно сильная положительная взаимосвязь ($r=0,755$; $p=0,03$) между NO и эстрадиолом.

Установлено, что наличие в геноме мутантного аллеля С приводит к меньшей концентрации NO в крови по сравнению с женщинами с генотипом Т/Т [15]. Но в данной работе концентрация NO у женщин с генотипом С/С в фолликулярную фазу цикла имела самое высокое значение по сравнению с женщинами с генотипом Т/Т и С/Т. Вероятно, это связано с включением в компенсаторную реакцию эстрадиола, который увеличивает уровень NO путем активации фермента eNOS посредством прямого фосфорилирования эстрогеновых рецепторов и дальнейшую передачу сигнала через протеинкиназные каскады, активирующие данный фер-

Эстрадиол и вазоактивные эндотелиальные факторы у женщин с генотипами по полиморфизму T-786C(rs 2070744) гена eNOS в фазы овариально-менструального цикла, уд. ед., Me (Q1;Q3)

Генотип	Фаза цикла					
	фолликулярная			лютеиновая		
	Т/Т	С/Т	С/С	Т/Т	С/Т	С/С
NO, мкмоль/л	13,713* (11,706;15,719)	15,53▲ (13,97;17,098)	18,239*▲ (13,21;23,262)	16,804 (12,148;21,459)	16,470 (14,709;18,231)	15,582 (12,386;18,77)
ЭТ-1, фмоль/мл	0,62* (0,362;1,00)	0,84▲ (0,39;1,66)	1,24*▲ (0,28; 2,670)	1,227* (0,726;1,728)	0,987▲ (0,758;1,217)	2,51*▲ (0,160;4,87)
NO/ ЭТ-1	22,476 (13,11;28,01)	19,063 (14,40;25,22)	14,84 (8,49;25,412)	19,49 (13,66;25,33)	21,77 (16,96;26,57)	11,15 (6,15;16,15)
Эстрадиол, нмоль/л	0,218 (0,208;0,228)	0,268 (0,234;0,303)	0,341** (0,13;0,543)	0,308 (0,252;0,364)	0,362 (0,288;0,437)	0,269* (0,166;0,37)

Примечание. Установлены значимые различия, где $p<0,05$: ** в группе С/С в разные фазы цикла; * между генотипами С/С и Т/Т; ▲-между генотипами С/С и С/Т.

мент [12, 16], кроме того возможен и геномный путь, связанный с увеличением экспрессии гена *eNOS*.

Таким образом установлено, что взаимосвязь половых гормонов и NO проявляется только при наличии в генотипе мутантного аллеля *C* полиморфизма *T-786C* гена *eNOS*. Об этом свидетельствует отсутствие корреляционных связей у гомозигот по дикому аллелю (*T/T*), умеренная корреляционная связь у гетерозигот (*C/T*) и сильная - у гомозигот по мутантному аллелю (*C/C*).

Выводы:

1. У женщин, родившихся и проживающих в Арктическом регионе, распространенность генотипов и аллелей полиморфного варианта *T-786C* гена *eNOS* совпадает с европейскими популяциями. Частота встречаемости аллеля *T* - 0,67, а аллеля *C* - 0,33, самым редким вариантом является генотип *C/C*.

2. Периферический тонус сосудов у девушек с генотипом *C/C* был выше нормальных показателей в фолликулярную фазу после дозированной физической нагрузки, а в лютеиновую фазу - до и после дозированной физической нагрузки. У девушек с генотипами *T/T* и *C/T* не наблюдалось высоких показателей тонуса сосудов в различные фазы овариально-менструального цикла.

3. Генотип *C/C* проявлялся более высоким уровнем NO в фолликулярную фазу овариально-менструального цикла и сдвигом баланса вазоактивных эндотелиальных факторов в сторону констрикторных в обе фазы цикла.

4. Корреляционный анализ выявил положительную взаимосвязь эстрадиола и NO у женщин с генотипом *C/C* и умеренную взаимосвязь у гетерозигот, что свидетельствует о потенцирующем действии данных гормонов на продукцию NO.

Литература

1. Бебякова Н.А. Полиморфизм генов *AGT*, *AGT2R1* и *NOS3* как фактор риска развития

дисбаланса вазоактивных факторов/ Н.А. Бебякова, О.А. Первухина, Н.А. Фадеева, А.В. Хромова // Экология человека. - 2020. - №10. - С. 4-9.

Bebyakova N.A. Polymorphism of genes *AGT*, *AGT2R1* and *NOS3* as a risk factor for the development of imbalance of vasoactive factors [Structural and functional properties of vascular endothelium] / N.A. Bebyakova, O.A. Pervukhina, N.A. Fadeeva, A.V. Khromova // Human Ecology. - 2020. - No. 10. - S. 4-9.

2. Вардугина Н.Г. Подходы к стратификации сердечно-сосудистого риска у женщин с ранним эстрогендефицитом/ Н.Г. Вардугина, Т.А. Азаренкова // Российский кардиологический журнал. - 2010. - Т.84. - №4. - С. 24-28.

Vardugina N.G. Cardiovascular risk stratification in women with early oestrogen deficiency / N.G. Vardugina, T.A. Azarenkova // Russian Journal of Cardiology. - 2010. - Vol. 84 (4). - P. 24-28.

3. Герилович Л.А. Клиническое значение предикторов ангиогенеза и эндотелиальной дисфункции в прогнозировании исходов программ вспомогательных репродуктивных технологий: дис. на соиск. учен. степ. канд. мед. наук: 14.01.01./ Герилович Л.А.; Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека - Федеральное государственное бюджетное научное учреждение. - Иркутск. - 2015. - 112 с.

Gerilovich L.A. Clinical role of predictors of angiogenesis and endothelial dysfunction in outcomes prediction of assisted reproductive technologies program: 14.01.01. Cand. sci. Dissertation. - Krasnoyarsk State Medical University. - 2015. - P. 112.

4. Жадько Д.Д. Полиморфизм гена эндотелиальной синтазы монооксида азота. Ч. 1. Полиморфный вариант G894T (GLU298ASP, RS1799983) / Д.Д. Жадько, В.В. Зинчук // Журнал Гродненского государственного медицин. ун-та. - 2017. № 1. - С. 5-12.

Zhad'ko D.D. Polymorphism of endothelial nitric oxide synthase. Part 1. G894C gene polymorphism (GLU298ASP, RS1799983) / D.D. Zhad'ko, V.V. Zinchuk // Journal of the Grodno State Medical University. 2017. № 1. - P. 5-12.

5. Каде А.Х. Физиологические функции сосудистого эндотелия / А.Х. Каде, С.А. Занин, Е.А. Губарева и др. // Фундаментальные исследования. - 2011. - №11 (ч. 3). - С. 611-617.

Kade A. H. Physiological functions of vascular endothelium / A. H. Kade, S.A. Zanin, E.A. Gubareva // Fundamental research. - 2011. - №11 (p. 3). - P. 611-617.

6. Кузнецов И.В. Эндотелиальная дисфункция как связующее звено климактерического синдрома и сердечно-сосудистых заболеваний/ И.В. Кузнецов // Эффективная фармакология. - 2019. - Т.15, № 32. - С.32-40.

Kuznetsov I.V. Endothelial Dysfunction as a Link Between Climacteric Syndrome and Cardiovascular Diseases / I.V. Kuznetsov // Effective pharmacotherapy. - 2019. - Vol. 15, № 32. - P. 32-40.

7. Комзин К.В. Полиморфизмы генов, вовлеченных в регуляцию артериального дав-

ления у разных этнических групп жителей крайнего Севера Якутии, страдающих артериальной гипертензией / К.В. Комзин // Вестник Северо-Восточного федеральн. ун-та им. М.К. Аммосова. Серия: Медицинские науки. - 2019. - №4(17). - С. 5-12

Komzin K.V. Polymorphisms of genes involved in blood pressure regulation in different ethnic groups of residents of Far North of Yakutia with arterial hypertension / K.V. Komzin // Bulletin of North-Eastern Federal University. Part: Medical science. - 2019. - №4(17). - P. 5-12.

8. Пахомья Н.С. Роль полиморфизмов некоторых генов в реализации артериальной гипертензии/ Н.С. Пахомья, О.М. Урясьев, А.В. Шаханов // Земский врач. - 2014. - № 3-4 (24). - С. 21-24

Pahomya N.S. Role of some gene polymorphisms in arterial hypertension / N.S. Pahomya, O.M. Uryasyev, A.V. Shahanov // Zemskiy vrach. - 2014. - № 3-4 (24). - P. 21-24.

9. Chakrabarti S., Davidge S.T. G-Protein Coupled Receptor 30 (GPR30): A Novel Regulator of Endothelial Inflammation // PLoS ONE. 2012. Vol. 7 (12). E. 52357.

10. Duckles S.P., Miller V.M. Hormonal modulation of endothelial NO production. // Pflügers Arch. Eur. J. Physiol. 2010 V.459(6). P.841-851.

11. Green D.J., Maiorana A., O'Driscoll G. L., Taylor R. Effect of exercise in humans on the l-arginine-derived nitric oxide function in humans // Journal of Physiology. 2004. Vol. 561 (Pt. 1). P. 1-25

12. Kim K.H., Bender J.R. Membrane-initiated actions of estrogen on the endothelium. // Mol. Cell. Endocrinol. 2009. V.308(1-2). P.3-8.

13. Kypreos K.E., Zarovic S., Petropoulos P.-I. et al. Regulation of endothelial nitric oxide synthase and high-density lipoprotein quality by estradiol in cardiovascular pathology // Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics. 2014. Vol. 19. P. 256-2

14. MacRitchie A.N., Jun S. S., Chen Z. et al. Estrogen upregulates endothelial nitric oxide synthase gene expression in fetal pulmonary artery endothelium // Circ. Res. 1997. Vol. 81. P. 355-362.

15. Miyamoto Y., Saito Y. et al. Replication protein A1 reduces transcription of the endothelial nitric oxide synthase gene containing a -786T→C mutation associated with coronary spastic angina // Hum Mol Genet. 2000. Vol. 9 (18). P. 2629-2637

16. Siow R.C. M., Li F.Y., Rowlands D.J., de Winter P., Mann G.E. Cardiovascular targets for estrogens and phytoestrogens: transcriptional regulation of nitric oxide synthase and antioxidant defense genes. // Free Radic. Biol. Med. 2007. V.42(7). P.909-925.

17. Yaghoubi AR, Khaki-Khatibi F. t-786C single-nucleotide polymorphism (sNP) of endothelial nitric oxide synthase gene and serum level of vascular endothelial relaxant factor (VeRF) in nondiabetic patients with coronary artery disease. African Journal of Biotechnology. 2012. 11 (93). P.15945-9.