

ВЛИЯНИЕ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ IL1 β , EDN1 И NOS3 НА ИНДИВИДУАЛЬНЫЙ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА В РЕСПУБЛИКЕ КРЫМ

ЗАХАРЬЯН ЕЛЕНА АРКАДЬЕВНА, ORCID ID: 0000-0002-7384-9705, Scopus ID: 57216831737, Researcher ID: SPIN-код: 6221-9905, канд. мед. наук, доцент, кафедра внутренней медицины №1, Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», 295006, Россия, Республика Крым, город Симферополь, бульвар Ленина, дом 5/7, email: locren@yandex.ru

ГРИЦКЕВИЧ ОЛЬГА ЮРЬЕВНА, ORCID ID: 0000-0002-0312-9972, Scopus ID: 278641, Researcher ID: ACC-1489-2022, SPIN-код: 5305-7655 младший научный сотрудник, кафедра внутренней медицины №1, Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», 295006, Россия, Республика Крым, город Симферополь, бульвар Ленина 5/7; e-mail: sudmedma@mail.ru

Реферат. Введение. Распространенность ишемической болезни сердца увеличивается, что обуславливает важность исследовательских поисков с целью совершенствования профилактики, диагностики и лечения данной патологии. **Цель исследования** – выявление ассоциаций полиморфизмов генов интерлейкина 1-бета, эндотелина-1 и эндотелиальной синтазы оксида азота у пациентов с ишемической болезнью сердца. **Материалы и методы.** Методом мультиплексной аллель-специфической полимеразной цепной реакции с электрофоретической детекцией нами изучены полиморфные маркеры генов эндотелина-1 (rs5370), эндотелиальной синтазы оксида азота (rs2070244) и интерлейкина 1-бета (rs1143634 и rs16944) у пациентов с ишемической болезнью сердца (n=229) и представителей контрольной группы (n=56). Об ассоциации генотипов с заболеванием судили по величине отношения шансов; для оценки значимости отношения шансов рассчитывали границы 95% доверительного интервала. **Результаты.** Анализ полиморфизма T-511C в гене интерлейкина 1-бета продемонстрировал тенденцию к увеличению риска развития ишемической болезни сердца, связанную с генотипом TT в исследуемой группе (Отношение шансов=2,2, 95% Доверительный интервал: 1,3–3,6). В то же время генотип CC позволяет ассоциировать его с протективным эффектом (Отношение шансов=0,3, 95% Доверительный интервал: 0,2–0,6). При анализе полиморфизма C3953T в гене интерлейкина 1-бета, генотип TT показал значительное увеличение риска развития в рамках исследуемой патологии (Отношение шансов=6,4, 95% Доверительный интервал: 1,7–23,4). Анализ полиморфного маркера C786T в гене NOS3 показал зависимость генотипа TT с предрасположенностью к возникновению ишемической болезни сердца (Отношение шансов=2,07, 95% Доверительный интервал: 1,3–3,2), а генотип CC продемонстрировал протективный эффект (Отношение шансов=0,3, 95% Доверительный интервал: 0,2–0,5). Аналогичный результат был получен в эксперименте с полиморфизмом Lys198Asp в гене эндотелина-1. Генотип TT демонстрирует ассоциацию с увеличением риска развития ишемической болезни сердца (Отношение шансов=6,5, 95% Доверительный интервал: 3,4–12,4). Анализ отношения шансов влияния гетерозигот показал отсутствие риска возникновения ишемической болезни сердца (Отношение шансов =0,3, 95% Доверительный интервал: 0,1–0,5). **Заключение.** В результате проведенного исследования обнаружена ассоциативная связь между полиморфными маркерами генов эндотелина-1 (rs5370), eNOS (rs2070244) и интерлейкина-1 β (rs114634 и rs16944) и риском возникновения ишемической болезни сердца в популяции, что может оказаться полезным как для стратификации, так и выбора дальнейших терапевтических стратегий.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, полиморфизмы, гены, EDN1, eNOS, IL1 β .

Для ссылки: Захарьян Е.А., Грицкевич О.Ю. Влияние однонуклеотидных полиморфизмов генов IL1 β , EDN1 и NOS3 на индивидуальный генетический профиль пациентов с ишемической болезнью сердца в Республике Крым // Вестник современной клинической медицины. – 2023. – Т. 16, вып. 6. – С. 31-36. DOI: 10.20969 / VSKM.2023.16(6).31-36.

IMPACT OF THE SINGLE-NUCLEOTIDE POLYMORPHISM OF GENES IL1 β , EDN1, AND NOS3 GENES ON THE INDIVIDUAL GENETIC PROFILE OF PATIENTS WITH CORONARY HEART DISEASE IN THE REPUBLIC OF CRIMEA

ZAKHARYAN ELENA A., ORCID ID: 0000-0002-7384-9705, Scopus ID: 57216831737, SPIN-code: 6221-9905, Cand. sc. med., Associate Professor, Department of Internal Medicine 1, Medical Academy named after S. I. Georgievsky of Vernadsky Crimean Federal University, 5/7 Lenin Boulevard, 295006 Simferopol, Russia; email: locren@yandex.ru

GRITSKEVICH OLGA YU., ORCID ID: Junior Researcher at the Department of Internal Medicine 1, Medical Academy named after S. I. Georgievsky of Vernadsky Crimean Federal University, 5/7 Lenin Boulevard, 295006 Simferopol, Russia; e-mail: sudmedma@mail.ru

Abstracts. Introduction. Coronary heart disease prevalence rate grows, which determines the importance of researchers' inquiries aiming to improve the prevention, diagnosis, and treatment of this pathology. **Aim.** This study was aimed at identifying the associations of polymorphisms of genes interleukin 1-beta, endothelin-1, and endothelial nitric oxide synthase in patients with coronary heart disease. **Materials and Methods.** We studied polymorphic markers of endothelin-1 (rs5370), endothelial nitric oxide synthase (rs2070244), and interleukin 1-beta genes (rs1143634 and rs16944) in patients with ischemic heart disease (n=229) and in controls (n=56) by multiplex allele-specific polymerase

chain reaction with electrophoretic detection. Odds ratio (OR) was used to state the association of genotypes with the disease; 95% confidence interval limits were calculated to assess the significance of OR. **Results and Discussion.** Analysis of the T-511C polymorphism in the interleukin 1-beta gene demonstrated a trend towards an increased risk of coronary heart disease associated with the TT genotype in the study group (Odds ratio=2.2, 95%. Confidence interval: 1.3-3.6). At the same time, the CC genotype can be associated with a protective effect (Odds Ratio=0.3, 95%. Confidence Interval: 0.2-0.6). When analyzing the C3953T polymorphism in the interleukin 1-beta gene, the TT genotype showed a significantly increased disease development risk within the pathology under study (Odds Ratio=6.4, 95%. Confidence Interval: 1.7-23.4). Analysis of the polymorphic marker C786T in the NOS3 gene showed a correlation between the TT genotype and susceptibility to coronary heart disease (Odds ratio=2.07, 95%. Confidence interval: 1.3-3.2), while the CC genotype showed a protective effect (Odds ratio=0.3, 95%. Confidence interval: 0.2-0.5). A similar result was obtained in an experiment with the Lys198Asn polymorphism in the endothelin-1 gene. TT genotype showed an association with the increased risk of coronary heart disease (Odds ratio=6.5, 95%. Confidence Interval: 3.4-12.4). Odds ratio analysis of the effect of heterozygotes showed no risk of coronary heart disease (Odds ratio=0.3, 95%. Confidence Interval: 0.1-0.5).

Conclusions. This study allowed us to find an association between the polymorphic markers of genes endothelin-1 (rs5370), eNOS (rs2070244), and interleukin-1 β (rs114634 and rs16944) and the coronary heart disease risk in the population, which may be useful for both stratification and selection of further therapeutic strategies.

Keywords: coronary heart disease, polymorphisms, genes, EDN1, eNOS, IL1 β .

For reference: Zakharyan EA, Gritskevich OYu. The influence of single nucleotide polymorphisms of the IL1 β , EDN1 and NOS3 genes on the individual genetic profile of patients with coronary heart disease in the Republic of Crimea. The Bulletin of Contemporary Clinical Medicine. 2023;16(6): 31-36. DOI: 10.20969/ VSKM.2023.16(6).31-36.

Введение. В 1953 году Francis Crick, James Watson и Maurice Wilkins представили миру раскодировку ДНК человека, тем самым раскрыв ее биологическое значение [1]. С этого поворотного события прошло 70 лет, и на сегодняшний день изучение различных мутаций генов и полиморфизмов остаётся актуальной темой исследований в различных областях медицины. Вариация генов приводит к изменению структуры белков, а значит и к изменению их свойств. Ассоциация патологии с полиморфными маркерами играет важную роль в молекулярной диагностике многих заболеваний и является составляющей индивидуального генетического паспорта пациента. Эти генетические различия вносят важный вклад в персональные особенности развития защитных реакций и доказано влияют на предрасположенность к целому ряду заболеваний, среди которых — ишемическая болезнь сердца (ИБС). Уникальные генетические особенности, приводящие к изменению в протеоме, могут стать основой для выявления предрасположенности к ишемической болезни сердца, агрессивности её течения и разработке новых терапевтических тактик в отношении пациентов кардиологического профиля.

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ), в особенности, ишемическая болезнь сердца, находятся на первом месте среди причин смертности в большинстве экономически развитых стран мира [2]. Распространенность ИБС увеличивается пропорционально увеличению возраста и достигает 50% среди населения старше 70 лет, что обуславливает важность исследовательских поисков с целью совершенствования профилактики, диагностики и лечения данной патологии [2].

Цель исследования – выявление ассоциаций полиморфизмов генов интерлейкина 1-бета, эндотелина-1 и эндотелиальной синтазы оксида азота у пациентов с ишемической болезнью сердца.

Материалы и методы. В исследование включены 229 пациентов с диагностированной ИБС (143 мужчины и 86 женщин). Средний возраст составил 60,87 \pm 12,3 лет. Контрольная группа была представлена здоровыми добровольцами в количестве 56 человек.

В лабораторных условиях было проведено исследование методом мультиплексной аллель-специфической полимеразной реакции с электрофоретической детекцией с использованием реагентов НПФ «ЛИТЕХ» (Россия) согласно приложенной инструкции. Амплификация проводилась на CFX96 Touch Real Time, Bio-Rad (Швейцария). ДНК человека была выделена из периферической венозной крови фенол-хлороформным методом. Целевому анализу подвергались полиморфные маркеры: T-511C в гене IL1 β (rs16944), C3953T в гене IL1 β (rs1143634), Lys198Asn в гене EDN1 (rs5370), C786T в гене NOS3 (rs2070744).

Методы статистического анализа: об ассоциации генотипов с заболеванием судили по величине отношения шансов (OR), которая показывает вероятность увеличения риска развития патологии для индивида с генотипом, ассоциированным с заболеванием:

$$OR = \frac{A/B}{C/D}$$

где А – число (процент) индивидов с генотипом, ассоциированным с заболеванием в группе больных;

В – число (процент) индивидов с генотипом, не являющимся фактором риска в группе больных;

С – число (процент) индивидов с генотипом, ассоциированным с заболеванием в контрольной группе;

Д – число (процент) индивидов с генотипом, не являющимся фактором риска в контрольной группе;

Для оценки значимости отношения шансов рассчитывали границы 95% доверительного интервала (95% ДИ). Формула для нахождения значения верхней границы 95% ДИ:

$$e^{\ln(OR) + 1.96 \sqrt{\frac{1}{A} + \frac{1}{B} + \frac{1}{C} + \frac{1}{D}}}$$

Формула для нахождения значения нижней границы 95% ДИ:

$$e^{\ln(OR) - 1.96 \sqrt{\frac{1}{A} + \frac{1}{B} + \frac{1}{C} + \frac{1}{D}}}$$

Для автоматического расчёта все формулы были внесены в таблицу Microsoft Office Excel.

Исследование было одобрено этическим комитетом учреждения (протокол №5 от 19.05.2022); у всех испытуемых получены информированные согласия.

Результаты и их обсуждение.

В 1985 году С J March et al. опубликовали статью, в которой была описана группа интерлейкинов 1 (IL1), в том числе IL1 β , являющийся провоспалительным цитокином и принимающий участие в поддержании воспалительного процесса [3]. Воспаление является неотъемлемой частью развития атерогенеза, что впервые подробно и доказательно описано в 1999 году в статье Ross R [4] и в последующем подтверждено многочисленными работами. Сама воспалительная реакция может оказывать глубокое влияние на движение липопротеинов в артерии (рис. 1).

Результаты мета-анализа ассоциации между полиморфизмами гена IL1 и риском ИБС, опубликованные Zhou L, et al. в 2012 году, показали отсутствие достоверной связи. Однако исследования, проведенные в последующие годы как отечественными, так и зарубежными учеными [5-9], демонстрируют убедительные данные о наличии связей между IL1 и развитием данной патологии. Упомянутые исследования включали в себя изучение влияния различных SNP гена IL1, но объединяют их результаты о влиянии полиморфных маркеров T-511C (rs16944) и C3953T (rs1143634) в гене IL1 β как наиболее важных точечных мутаций. Конкурирующие результаты исследований могут быть связаны с особенностями выбранных популяций. Так, Громова А.Ю. и Симбирцев А.С. опубликовали обзор о полиморфизмах

генов семейства IL1, в котором указывают, что носительство генотипа С SNP rs16944 и rs1143634 способствует адекватной продукции кодирующих белков, следовательно, осуществляет адекватное функционирование. Аналогичный результат был получен в ходе нашего исследования. В результате статистического анализа полученных распределений аллелей полиморфного маркера T-511C в гене IL1 β , была продемонстрирована тенденция к увеличению риска развития ИБС, связанная с генотипом ТТ в исследуемой группе (ОШ=2,2, 95% ДИ: 1,3–3,6), что позволяет ассоциировать полиморфизм ТТ с неблагоприятным прогнозом. В то же время генотип СС позволяет ассоциировать его с протективным эффектом (ОШ=0,3, 95% ДИ: 0,2–0,6).

При анализе полиморфного варианта С3953Т в гене IL1 β , генотип ТТ показал ассоциацию со значительным увеличением риска развития исследуемой патологии (ОШ=6,4, 95% ДИ: 1,7–23,4), однако, говорить об обратном эффекте генотипа СС затруднительно, так как доверительный интервал 0,9–2,4 не является надёжным. Это указывает на то, что носительство аллеля II с высокой вероятностью обуславливает предрасположенность к возникновению атеросклероза и ИБС [10].

Проведенный мета-анализ более пятидесяти научных работ подтверждает наличие достоверной связи полиморфного маркера С786Т (rs2070744) гена эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS, или NOS3) с предрасположенностью к ИБС [11]. К 1998 году Robert F. Furchgott, Louis J. Ignarro and Ferid Murad получили Нобелевскую премию за открытие “оксида азота (NO) как сигнальной молекулы в сердечно-сосудистой системе”, оказывающего прямое

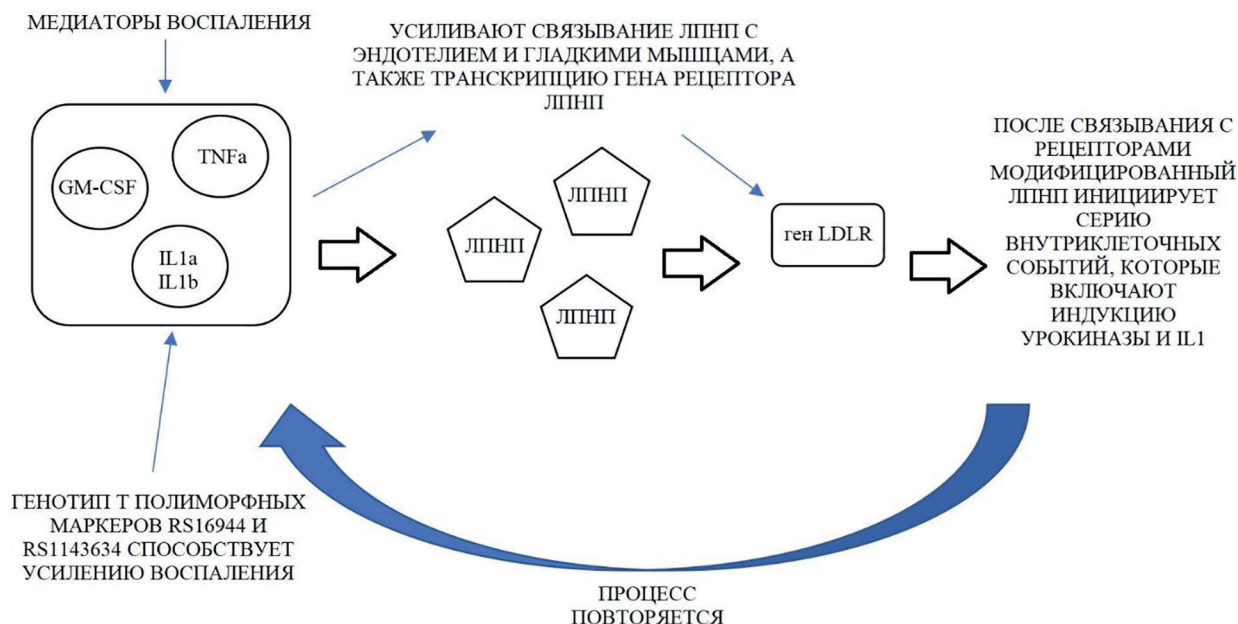


Рис. 1. Замкнутый круг воспалительного процесса с участием ЛПНП и IL1.

Примечание: ЛПНП – липопротеины низкой плотности; GM-CSF - гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор; LDLR – ген-рецептор липопротеинов низкой плотности; TNF α – фактор некроза опухоли

Fig. 1 - Vicious circle of inflammatory process involving LDL and IL1.

Note: ЛПНП - low density lipoproteins; GM-CSF - granulocyte-macrophage colony-stimulating factor; LDLR, low density lipoprotein receptor gene; TNF α , tumor necrosis factor

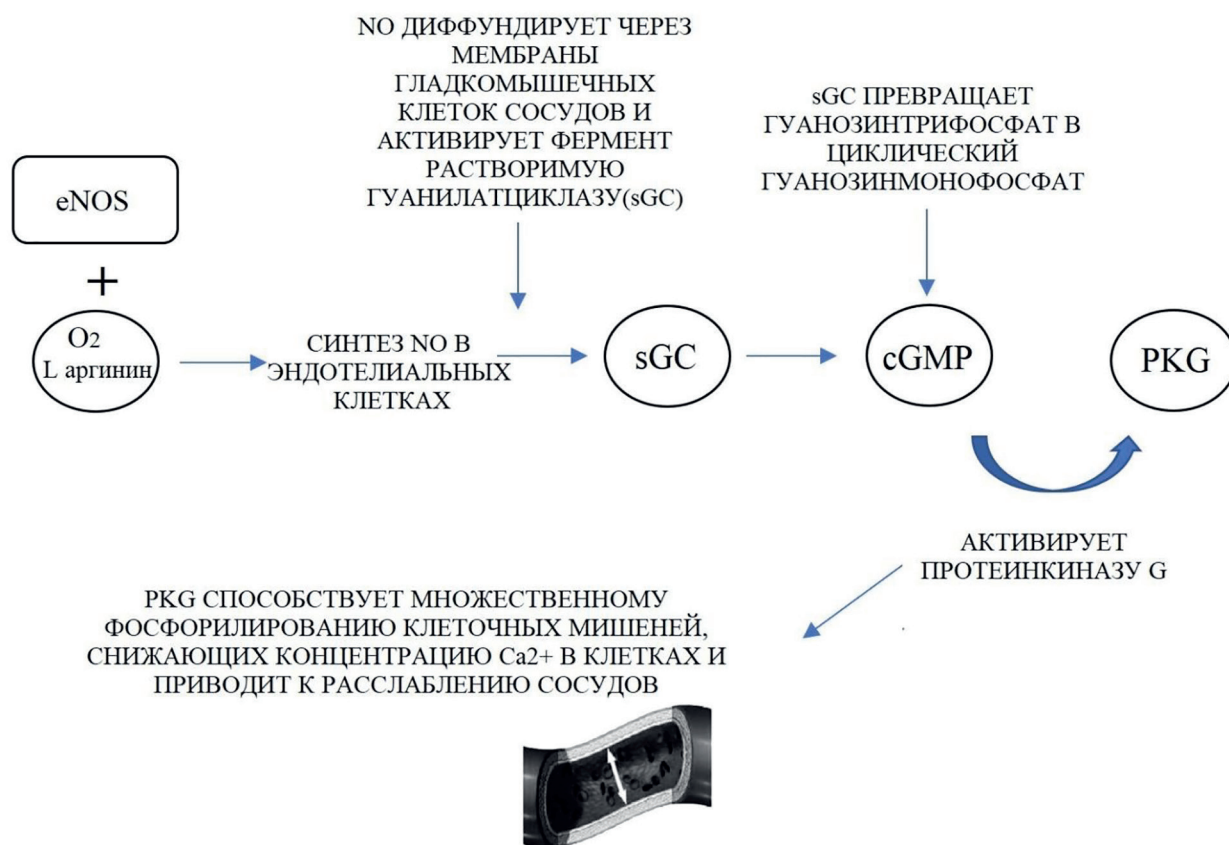


Рис. 2. Участие гена eNOS в расслаблении стенки сосуда

Примечание: cGMP – циклический гуанозинмонофосфат; eNOS – эндотелиальная синтаза оксида азота; NO – оксид азота; O₂ – химический символ кислорода; PKG – протеинкиназа G; sGC – растворимые гуанилатциклазы

Fig. 2. Involvement of the eNOS gene in vessel wall relaxation

Note: cGMP, cyclic guanosine monophosphate; eNOS, endothelial nitric oxide synthase; NO, nitric oxide; O₂ is the chemical symbol for oxygen; PKG, protein kinase G; sGC, soluble guanylate cyclases.

влияние на расслабление гладкой мускулатуры сосудов. L-аргинин и молекулярный кислород синтезируют три различные изоформы NO: индуцируемую (iNOS), нейрональную (nNOS) и эндотелиальную (eNOS) [12]. Сообщалось, что все эти изоформы экспрессируются при атеросклеротических поражениях сосудов человека и играют важную роль в развитии атеросклероза [13]. Очевидно, что дефицит активности NO лежит в генезе коронарных спазмов [14] (рисунок 2).

Таким образом, функциональная роль эндотелиальной NO-синтазы зависит от количества молекул в клетке (уровня экспрессии гена eNOS) и от ее активности. Генотип 786Т в гене eNOS ассоциирован со снижением экспрессии данного гена и способностью повышать риск развития ИБС [15], что подтверждается результатами, полученными в нашем исследовании: генотип ТТ показал ассоциацию с неблагоприятным исходом заболевания (ОШ=2,07, 95% ДИ: 1,3–3,2), а генотип СС продемонстрировал протективный эффект (ОШ=0,3, 95% ДИ: 0,2–0,5).

В 1988 году в журнале Nature была опубликована статья Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, et al., в которой описан белок гена EDN1 как мощный сосудосуживающий фактор [16]. Уже в 1999 году эндотелин-1 определен как пептид, имеющий прямое отношение к возникновению ИБС, атеросклероза,

инфаркта миокарда, нарушениям ритма и другим заболеваниям [17]. В нашем исследовании изучение генотипа ТТ, приводящего к конверсии аминокислот лизина на аспаргин в кодоне 198 экзона 5 в гене EDN1, демонстрирует ассоциацию с увеличением риска развития ИБС и атеросклероза (ОШ=6,5, 95% ДИ: 3,4–12,4).

Аналогичный результат был получен в эксперименте с полиморфным маркером Lys198Asn в гене EDN1. Генотип ТТ демонстрирует ассоциацию с увеличением риска развития ИБС (ОШ=6,5, 95% ДИ: 3,4–12,4). Анализ отношения шансов влияния гетерозигот показал отсутствие риска возникновения ИБС (ОШ=0,3, 95% ДИ: 0,1–0,5). Однако, генотип GG не показал статистически значимого протективного эффекта. Аналогичные выводы были продемонстрированы и другими авторами, чьи результаты подтверждают связь данного полиморфного маркера с более низкими показателями ЛПВП, развитием атеросклероза и ИБС [18–20].

В других экспериментах статистический метод определения величины отношения шансов не позволяет оценить связь гетерозигот с риском возникновения ИБС в связи с отсутствием статистически значимых показателей доверительного интервала.

Общие сведения об описанных результатах представлены в таблице 1.

Интервальная оценка статистических параметров результатов snp маркеров T-511C в гене IL1 β (rs16944), C3953T в гене IL1 β (rs1143634), Lys198Asn в гене EDN 1 (rs5370), C786T в гене NOS3 (rs2070744)

Interval estimation of statistical parameters of the results of snp markers T-511C in the IL1 β gene (rs16944), C3953T in the IL1 β gene (rs1143634), Lys198Asn in the EDN 1 gene (rs5370), C786T in the NOS3 gene (rs2070744)

Полиморфизм	Генотипы	Частота генотипов		ОШ (95% ДИ)
		Клиническая группа	Контрольная группа	
T-511C в гене IL1 β	CC	56	18	0,3 (0,2–0,6)
	TC+TT	173	38	
	CT	87	26	1,2 (0,8–2,0)
	CC+TT	142	30	
	CC+CT	173	44	2,2 (1,3–3,6)
	TT	86	12	
C3953T в гене IL1 β	CC	96	18	1,5 (0,9–2,4)
	TT+CT	133	38	
	CT	89	36	0,3 (0,2–0,5)
	CC+TT	140	20	
	CC+CT	185	54	6,4 (1,7–23,4)
	TT	44	2	
Lys198Asn в гене EDN1	GG	73	22	0,7 (0,4–1,5)
	GT+TT	156	34	
	GT	55	28	0,3 (0,1–0,5)
	GG+TT	174	28	
	GG+GT	128	50	6,5 (3,4–12,4)
	TT	101	6	
C786T в гене NOS3	CC	61	28	0,3 (0,2–0,5)
	CT+CC	167	28	
	CT	54	10	1,4 (0,8–2,4)
	TT+CC	174	46	
	TT+CT	115	38	2,07 (1,3–3,2)
	TT	113	18	

Выводы. Опираясь на наши результаты изучения полиморфизмов среди пациентов в Республике Крым, с диагностированной ишемической болезнью сердца, в совокупности с проводимыми ранее исследованиями других авторов, можно заключить, что SNP мутации оказывают неоспоримое влияние на молекулярно-генетическом уровне, кодируя различные механизмы, как участвующие в возникновении патологии сердечно-сосудистой системы, так и препятствующие ей. Изучение индивидуального генотипа человека на сегодняшний день становится основой персонализированной медицины и позволяет применять данные знания и опыт в лечении уже развившегося патологического состояния применяя таргетную терапию. Важной составляющей являются профилактические мероприятия, так как

«гены предрасположенности» будут вероятнее усугублять течение заболевания в сочетании с такими негативными факторами как изменение экологии, инфекции, вредные привычки и другое.

Прозрачность исследования. Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Декларация о финансовых и других взаимоотношениях. Источник финансирования: исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда №22-25-20053, <https://rscf.ru/project/22-25-20053/>. Все авторы принимали участие в разработке концепции и дизайна исследования и в написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Watson JD, Crick FH. Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*. 1953; 171 (4356): 737-738. DOI: 10.1038/171737a0
2. Шальнова С.А., Деев А.Д. Ишемическая болезнь сердца в России: распространенность и лечение (по данным клинико-эпидемиологических исследований) // *Терапевтический архив*. – 2011. – № 83. – С. 7-12. [Shal'nova SA, Deev AD. Ishemicheskaya bolezn' serdca v Rossii: rasprostranennost' i lechenie (po dannym kliniko-epidemiologicheskikh issledovanij) [Coronary heart disease in Russia: prevalence and treatment (according to clinical and epidemiological studies)]. *Terapevticheskij arhiv* [Therapeutic Archive]. 2011; 83 (1): 7-12. (In Russ.)].
3. March CJ, Mosley B, Larsen A, et al. Cloning, sequence and expression of two distinct human interleukin-1 complementary DNAs. *Nature*. 1985; 315 (6021): 641-647. DOI: 10.1038/315641a0
4. Ross R. Atherosclerosis an inflammatory disease. *The New England Journal of Medicine*. 1999; 340 (2): 115-26. DOI: 10.1056/NEJM199901143400207
5. Zhou L, Cai J, Liu G, et al. Associations between interleukin-1 gene polymorphisms and coronary heart disease risk: a meta-analysis. *PLOS One*. 2012; 7 (9): 45641. DOI: 10.1371/journal.pone.0045641
6. Liang Y, Kelemen A. Shared polymorphisms and modifiable behavior factors for myocardial infarction and high cholesterol in a retrospective population study. *Medicine (Baltimore)*. 2017; 96 (37): 7683. DOI: 10.1097/MD.00000000000007683
7. Chen X, Chen X, Xu Y, et al. Association of six CpG-SNPs in the inflammation-related genes with coronary heart disease. *Human Genomics*. 2016; 10: 21. DOI: 10.1186/s40246-016-0067-1
8. Rai H, Sinha N, Kumar S, et al. Interleukin-1 Gene Cluster Polymorphisms and Their Association with Coronary Artery Disease: Separate Evidences from the Largest Case-Control Study amongst North Indians and an Updated Meta-Analysis. *PLOS One*. 2016; 11 (4): 0153480. DOI: 10.1371/journal.pone.0153480
9. Vargas-Alarcón G, Cruz-López M, Valladares A, et al. The interleukin-1 β -511 T>C (rs16944) gene polymorphism is associated with risk of developing silent myocardial ischemia in diabetic patients. *Immunology Letters*. 2015; 168 (1): 7-12. DOI: 10.1016/j.imlet.2015.08.005
10. Хуторная М.В., Понасенко А.В., Байракова Ю.В., Головкин А.С. Взаимосвязь полиморфизмов гена IL1B и табакокурения с риском возникновения инфаркта миокарда // *Acta Biomedica Scientifica*. – 2014. – № 5. – С.30-33. [Hutornaya MV, Ponasenko AV, Bajrakova YUV, Golovkin AS. Vzaimosvyaz' polimorfizmov gena IL1B i tabakokureniya s riskom vzniknoveniya infarkta miokarda [Relationship of IL1B gene polymorphisms and tobacco smoking with risk of myocardial infarction]. *Acta Biomedica Scientifica* [Acta Biomedica Scientifica]. 2014; 5: 30-33. (In Russ.)].
11. Yu J, Wu X, Ni J, Zhang J. Relationship between common eNOS gene polymorphisms and predisposition to coronary artery disease: Evidence from a meta-analysis of 155 published association studies. *Genomics*. 2020; 112(3): 2452-2458. DOI: 10.1016/j.ygeno.2020.01.019
12. Sessa WC. The nitric oxide synthase family of proteins. *Journal of Vascular Research*. 1994; 31 (3): 31-143. DOI: 10.1159/000159039
13. Yogo K, Shimokawa H, Funakoshi H, et al. Different vasculoprotective roles of NO synthase isoforms in lesion formation in mice. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2000; 20 (11): 96-100. DOI: 10.1161/01.atv.20.11.e96
14. Kugiyama K, Yasue H, Okumura K, et al. Nitric oxide activity is deficient in spasm arteries of patients with coronary spastic angina. *Circulation*. 1996; 94 (3): 266-271. DOI: 10.1161/01.cir.94.3.266
15. Изитенко С.И., Огородова Л.М., Рукин К.Ю., Петрова И.В. Ассоциация полиморфизма генов эндотелиальной NO-синтазы с риском развития и прогрессирования ишемической болезни сердца // *Дневник казанской медицинской школы*. – 2017. – Т.1, вып. 15. – С. 40-44. [Izitenko SI, Ogorodova LM, Rukin KY, Petrova IV. Associaciya polimorfizma genov endotelial'noj NO-sintazy s riskom razvitiya i progressirovaniya ishemicheskoy bolezn'i serdca [Association of endothelial NO synthase gene polymorphisms with risk of development and progression of coronary heart disease]. *Dnevnik kazanskoj medicinskoj shkoly* [Diary of the Kazan medical school]. 2017; 1 (15): 40-44. (In Russ.)].
16. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*. 1988; 332 (6163): 411-415. DOI: 10.1038/332411a0
17. Гомазков О. А. Система эндотелиновых пептидов: механизмы кардиоваскулярных патологий // *Вопросы медицинской химии. Биомедицинская химия*. – 1999. – №45, вып. 4. – С. 290-302. [Gomazkov OA. Sistema endotelinovykh peptidov: mekhanizmy kardiovaskulyarnykh patologij [The endothelin peptide system: mechanisms of cardiovascular pathologies]. *Voprosy medicinskoj himii. Biomedicinskaya himiya* [Issues in medicinal chemistry. Biomedical Chemistry]. 1999; 45 (4): 290-302. (In Russ.)].
18. Ebrahimi N, Asadikaram G, Mohammadi A, Jahani Y, Moridi M, Masoumi M. The association of endothelin-1 gene polymorphism and its plasma levels with hypertension and coronary atherosclerosis. *Archives of Medical Science*. 2019; 17 (3): 613-620. DOI: 10.5114/aoms.2019.86770
19. Pare G, Serre D, Brisson D, et al. Genetic analysis of 103 candidate genes for coronary artery disease and associated phenotypes in a founder population reveals a new association between endothelin-1 and high-density lipoprotein cholesterol. *The American Journal of Human Genetics*. 2007; 80 (4): 673-682. DOI: 10.1086/513286
20. Timizheva KB, Azova MM, Aissa AA, et al. Association of Gene Polymorphisms of Some Endothelial Factors with Stent Reendothelization after Elective Coronary Artery Revascularization. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2021; 171 (2): 194-197. DOI: 10.1007/s10517-021-05193-5