

УДК 575.174.015.3:616.1

В.И. ДУНАЙ, канд. биол. наук, доцент¹

Н.А. ГЛИНСКАЯ, канд. с-х. наук, доцент,
доцент кафедры биохимии и биоинформатики¹

О.Н. ЖУК, канд. биол. наук, доцент,
доцент кафедры биотехнологии¹

Е.С. СИЛЬЧЕНКО

ассистент кафедры биохимии и биоинформатики,
магистр прикладной биотехнологии¹

¹Полесский государственный университет,
г. Пинск, Республика Беларусь

Статья поступила 12 апреля 2024 г.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА NOS3 ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ (eNOS) СИНТАЗЫ ОКСИДА АЗОТА КАК ПРЕДИКТОР ФОРМИРОВАНИЯ СОСУДИСТЫХ ПАТОЛОГИЙ

Данный обзор литературы посвящен проблеме интерпретации научных изысканий в области полиморфизма гена NOS3 эндотелиальной (eNOS) синтазы оксида азота. Трудность заключается в правильной оценке ассоциаций аллелей и различных состояний, которые имеют клиническое значение.

Ключевые слова: оксид азота, эндотелиальная NO-синтаза (eNOS), ген эндотелиальной синтазы оксида азота (NOS3), аллель, однонуклеотидный полиморфизм (SNP).

DUNAI V.I., PhD in Biol. Sc., Associate Professor¹

GLINSKAYA N.A., PhD in Agric. Sc., Associate Professor,
Associate Professor of the Department of Biochemistry and Bioinformatics¹

ZHUK O.N., PhD in Biol. Sc., Associate Professor,
Associate Professor of the Department of Biotechnology¹

SILCHENKO E.S., Assistant of the Department of Biochemistry and Bioinformatics¹

¹Polesky State University, Pinsk, Republic of Belarus

POLYMORPHISM OF THE NOS3 GENE OF ENDOTHELIAL (NO) NITRIC OXIDE SYNTHASE AS A PREDICTOR OF THE FORMATION OF VASCULAR PATHOLOGIES

This literature review addresses the problem of interpreting scientific research on endothelial nitric oxide synthase (eNOS) polymorphism of the NOS3 gene. The difficulty lies in correctly assessing the associations of alleles and various conditions that are clinically relevant.

Keywords: nitric oxide, endothelial NO synthase (eNOS), endothelial nitric oxide synthase (NOS3) gene, allele, single nucleotide polymorphism (SNP).

Введение. В настоящее время в научном мире отмечается большой интерес к группе генов синтаз оксида азота (NOS). Это обусловлено той биологической ролью, которую молекула оксида азота (NO) играет в функционировании различных систем организма человека. NO, вырабатываемый эндотели-

альной синтазой оксида азота – eNOS, кодируемой геном NOS3, является самым мощным из известных эндогенных вазодилататоров и его связь с различными сосудистыми патологиями не вызывает сомнений.

Цель. Обобщить и проанализировать литературные данные о связи полиморфизма

гена NOS3 эндотелиальной (eNOS) синтазы оксида азота с развитием сосудистых патологий для последующего выявления предпочтительных аллелей и определения возможности регулирования активности NO-синтазы в каждом конкретном случае, включая разработку лекарственных субстанций.

Материалы и методы. При поиске материала для написания обзорной статьи использовали такие реферативные базы данных, как PubMed, Google Scholar, e-Library, и др. Поиск осуществлялся по публикациям за период с 2000 по 2024 гг.

Результаты и обсуждение. Пожалуй, ни одно из достижений фундаментальной биологии не нашло столь быстрого приложения к практической медицине, как результаты исследований NO. Предметом нашей заинтересованности стал полиморфизм гена, играющего роль в регуляции тонуса сосудистой стенки – ген эндотелиальной синтазы NO (eNOS), который связан с изменением продукции оксида азота (NO), установлена его экспрессия в различных клетках и тканях, а также его взаимосвязь с различной патологией человека (таблица).

Несмотря на то, что eNOS экспрессируется конститутивно, множество факторов регулируют eNOS на транскрипционном, посттранскрипционном и посттрансляционном уровнях. В связи с этим, вариации гена eNOS влияют на регуляцию фермента eNOS и, соответственно, на продукцию NO [27, 47, 61, 69].

Литературные данные свидетельствуют о том, что ген NOS3 является высокополиморфным. Некоторые полиморфизмы NOS3 считаются функциональными, поскольку они влияют на экспрессию или активность NOS3. Среди этих полиморфизмов широко изучены SNP rs2070744, rs3918226 и rs1799983, а также VNTR в интроне 4 [18, 53].

SNP rs2070744, широко известный как -786T>C, воздействует на NOS3 на транскрипционном уровне. Исследования показали, что замена тимина цитозином в положении -786 промотора NOS3 резко снижает транскрипционную активность NOS3 [48]. Этот эффект, вероятно, связан с белком-репрессором гена, называемым репликационным белком A1 (RPA1), который связывается с промотором NOS3 с большим сродством в присутствии аллеля C. Действительно, ингибирование экспрессии RPA1 с помощью антисмыслового олигонуклеотида восстанавливало транскрипционную активность в промоторе NOS3 с аллелем C, в то время как гиперэкспрессия RPA1 показывала противоположный эффект [64].

Интересно, что эти исследования *in vitro* согласуются с результатами *in vivo*, которые выявили тенденцию к снижению уровня циркулирующих маркеров, связанных с NO, у лиц, являющихся носителями аллеля C, в сравнении с носителями аллеля T, что подтверждает функциональную роль этого SNP [40, 64].

Таблица – Характеристика эндотелиальной синтазы оксида азота

Наименования	NOS-3 eNOS Эндотелиальная NOS NOSIII
Размер мономера (человек)	~133 кДа
Кофакторы	НАДФН; ФМН; ФАД; ВН4; Кальмодулин; Гем
Ингибиторы	N-метил-L-аргинин; N-нитро-L-аргинин; N-иминоэтил-L-орнитин; 7-нитроиндазол
Внутриклеточная локализация	Плазматическая мембрана; Липидные рафты; Кавеолы; Цитозоль
Клетки	Эндотелиальные клетки; Тромбоциты
Тканевая экспрессия	Эндотелий
Функции	Сосудистая релаксация; Снижение адгезии тромбоцитов; Ангиогенез
Вовлеченность в заболевания	Гипертензия; Эндотелиальная дисфункция

VNTR, характеризующийся минисателитным повтором в 27 паре оснований в интроне 4 гена NOS3, регулирует NOS3 посттранскрипционно, влияя на образование малой интерферирующей РНК (siRNA). Этот полиморфизм широко известен как 4b/4a VNTR, и наиболее распространенными аллелями являются аллели с пятью (вариант 4b) или четырьмя (вариант 4a) копиями фрагмента минисателитного повтора в 27 паре оснований, хотя были описаны и другие, более редкие аллели [24]. Исследования *in vitro* показывают, что эндотелиальные клетки, содержащие пять копий, демонстрируют более высокое количество малой интерферирующей РНК, что приводит к более низким уровням мРНК NOS3 по сравнению с клетками, содержащими четыре копии [16, 23].

SNP rs1799983 расположен в экзоне 7 и соответствует замене гуанина на тимин в положении 894 гена NOS3, что приводит к замене глутамина на аспаргат в положении 298 белка, и, следовательно, этот SNP известен как Glu298Asp. Вариант аллеля Asp для полиморфизма Glu298Asp снижает связывание NOS3 с кавеолином1 и приводит к снижению доступности NOS3 в его кавеолярной фракции в эндотелиальных клетках [2, 15], что, в свою очередь, приводит к уменьшению количества NOS3, доступного для активации, и снижению активности NOS3 и продукции NO [63]. Фактически, снижение активности NOS3 наблюдалось в эндотелиальных клетках, несущих вариантный аллель Asp полиморфизма Glu298Asp [14, 15]. В подтверждение этих результатов *in vitro* было обнаружено снижение образования тромбоцитарного оксида азота у субъектов, являющихся носителями вариантного аллеля [24, 78]. Несмотря на то, что предыдущее исследование показало, что SNP rs3918226 не влияет на уровень нитритов в плазме крови (релевантный показатель эндогенной продукции NO), Salvi et al. недавно показали, что этот полиморфизм влияет на экспрессию NOS3 [35, 68].

Авторы заметили, что замена цитозина на тимин при положении -665 промотора NOS3 (-665C>T) снижает активность промотора NOS3. Принимая во внимание, что этот SNP расположен рядом с потенциальным сайтом связывания транскрипционного фактора для домена семейства Ets, возможно, что поли-

морфизм -665C>T модулирует транскрипцию NOS3, влияя на средство связывания транскрипционного фактора. Как уже говорилось ранее, домен семейства Ets положительно регулирует активность промотора NOS3, и поэтому разумно предположить, что эти транскрипционные факторы связываются с промотором NOS3 с более низким средством в присутствии вариантного аллеля, что приводит к меньшей транскрипции NOS3. Тем не менее, это предположение все еще требует дополнительной проверки [68].

В статье представлены примеры наиболее распространенных заболеваний, которые включают нарушение образования эндогенного оксида азота в качестве соответствующего патогенетического механизма.

Гипертония

Гипертония является многофакторным заболеванием, поражающим около 1 миллиарда человек, и основным фактором риска развития ишемической болезни сердца и нарушений мозгового кровообращения [74]. Существуют убедительные доказательства того, что нарушения в регуляции NOS3 могут приводить к дефициту NO и вызывать гипертензию [58]. Связан ли полиморфизм NOS3 с артериальной гипертензией – этому вопросу посвящено ряд исследований. Некоторые авторы отмечали повышенный риск развития артериальной гипертензии, связанный с вариантными аллелями полиморфизмов -786T>C, -665C>T, 4b/4a VNTR и Glu298Asp [30, 59, 62, 68, 71, 79]. Было показано, что T-аллель полиморфизма NOS3 786C/T ассоциирован с увеличением частоты развития гипертонической болезни у больных бронхиальной астмой в 2,4 раза, что позволяет использовать оценку данного полиморфизма для выявления больных бронхиальной астмой с повышенным риском развития гипертонической болезни [10]. Тем не менее, об отсутствии связи этого полиморфизма у лиц с артериальной гипертензией сообщалось во многих других исследованиях [8, 13, 41, 46, 79, 80]. Интересно, что гаплотипы, включающие полиморфизмы -786T>C, 4b/4a VNTR и Glu298Asp NOS3, влияют на развитие артериальной гипертензии [31, 41]. В частности, гаплотип C-4bGlu выявлен у людей без симптомов гипертонии, в то время как гаплотип C-4b-Asp связан с предрасположенностью к

гипертонии у людей, как чернокожих, так и белых [41], несмотря на существенные различия в распределении полиморфизмов и гаплотипов NOS3 при сравнении этих двух этнических групп [20, 24]. Результаты, полученные Ш.М. Машариповым, указывают на достоверно большее накопление GG-генотипа и G-аллеля G894T полиморфизма гена NOS3 среди контрольных лиц, то есть пациентов с нерезистентной артериальной гипертензией. Носительство G аллеля и GG генотипа G894T полиморфизма гена NOS3 ассоциировано с низким риском развития резистентной артериальной гипертензии в узбекской популяции [5].

Гипертензивные расстройства во время беременности

Гипертензивные расстройства затрагивают 3-5% беременностей и являются основными причинами материнской и неонатальной заболеваемости и смертности [41, 67]. Было показано, что снижение биодоступности NO может способствовать повышению артериального давления при гипертензивных расстройствах беременности, таких как гестационная гипертензия и преэклампсия [26, 41]. Основываясь на этих данных, было проведено исследование влияния полиморфизмов NOS3 на предрасположенность к гипертензии во время беременности, и были получены интересные результаты. В ряде исследований варианты аллели полиморфизмов -786T>C, 4b/4a VNTR и Glu298Asp ассоциируются с преэклампсией или гестационной гипертензией [6, 75, 77], и эти эффекты могут быть связаны с возможным дисбалансом продукции NO, вызванным этими аллелями [67]. В других исследованиях связь этих полиморфизмов с гипертензивными расстройствами у беременных не выявлена [39, 56, 67], что указывает на противоречивость результатов изучения однонуклеотидных полиморфизмов NOS3 при данных формах патологии. Чтобы прояснить этот вопрос, был использован мета-анализ полиморфизмов NOS3 при преэклампсии и было обнаружено, что аллель «С» в промоторе и аллель «4a» в интроне 4 увеличивают риск развития гипертензии, в то время как полиморфизм Glu298Asp не связан с этим заболеванием [73]. Исследование гаплотипов NOS3 при преэклампсии, выявило связь гаплотипа C-4b-Asp с изучаемым заболеванием [39]. Дру-

гое исследование, в свою очередь, показало высокую частоту встречаемости гаплотипа C-4b-Glu у здоровых беременных, по сравнению с беременными с преэклампсией. Интересно, что этот гаплотип также был связан с повышенным уровнем нитритов у здоровых беременных, что позволяет предположить, что гаплотип C-4b-Glu может защищать от преэклампсии за счет увеличения образования NO [67]. На основании этих выводов был выполнен анализ гаплотипов NOS3 tagSNP rs743506 и rs7830, включая также три функциональных полиморфизма, упомянутых выше. Было показано, что гаплотип C-4b-Glu-C-G (в отношении полиморфизмов в промоторе, интроне 4, экзоне 7 и tagSNP rs743506 и rs7830 соответственно) защищает от развития преэклампсии и гестационной гипертензии [44].

Сердечно-сосудистая патология

Результаты многочисленных исследований популяций людей подтверждают ассоциацию полиморфизма NOS3 G894T с ростом риска развития ишемической болезни сердца. В ряде исследований при применении мета-анализов был подтвержден рост рисков ишемической болезни сердца при указанном полиморфизме для гомо- и для гетерозигот [4, 7, 10, 12, 21, 38, 59]. Было доказано, что аллель eNOS *C является предиктором гемодинамических нарушений у жителей-северян, что может быть использовано для расчета риска формирования сердечно-сосудистой патологии в экстремальных условиях Севера уже в молодом возрасте [1].

Метаболические нарушения

Метаболические расстройства, такие как ожирение и диабет, очень распространены и затрагивают все большее число субъектов [19]. О важной роли NO в регуляции метаболизма свидетельствует биодоступность NO при клиническом и экспериментальном ожирении [66]. Интересно, что носители аллеля Asp для полиморфизма Glu298Asp NOS3 показали более высокий средний индекс массы тела, окружность талии и сумму кожных складок [17], что позволяет предположить, что вариации гена NOS3 могут способствовать генетической предрасположенности к ожирению. Учитывая, что ожирение часто начинается в детстве, оценка генетической предрасположенности к ожирению у детей и подростков является обязательной.

Генотип 4a4a для полиморфизма NOS3 в интроне 4 и гаплотип C-T-G-C, включающий NOS3 tagSNP rs3918226, rs3918188, rs743506 и rs7830, были ассоциированы с ожирением у детей и подростков [42, 70, 72]. Полиморфизмы NOS3 также связаны с ожирением, метаболическим синдромом и гипертензией [42, 43, 72]. Генотип CC для полиморфизма -786T>C был ассоциирован с метаболическим синдромом у детей и подростков. Кроме того, гаплотип C-4b-Glu (включая полиморфизмы -786T>C, 4b/4a VNTR и Glu298Asp) чаще встречался у мальчиков с метаболическим синдромом [43]. Интересно, что этот же гаплотип был связан с гипертензией у детей и подростков с ожирением [42] и был связан с более низким уровнем образования эндогенного оксида азота у взрослых разного этнического происхождения [32].

Нарушение продукции оксида азота также наблюдалось при сахарном диабете и его осложнениях, что подтверждает актуальность оценки вклада полиморфизмов NOS3 в эти состояния. В настоящее время имеются доказательства того, что аллель 4a для 4b/4a VNTR увеличивает риск развития сахарного диабета как 1-го, так и 2-го типа [11, 37, 52]. Интересно, что этот аллель был связан с эндотелиальной дисфункцией у пациентов с сахарным диабетом [45, 65], предполагая, что аллель 4a ухудшает биодоступность NO, формируя предрасположенность к диабету. Помимо аллеля 4a, аллель Asp для полиморфизма Glu298Asp также ассоциируется с предрасположенностью к диабету [11, 34], и эта связь, по-видимому, особенно важна у пациентов с ожирением [51]. Более того, гаплотип C-4b-Glu был описан как защищающий от сахарного диабета 2 типа [28]. Хроническая гипергликемия у пациентов с сахарным диабетом способствует развитию микрососудистых осложнений, таких как диабетическая нефропатия и ретинопатия [22], и полиморфизмы NOS3 также могут влиять на эти осложнения. Действительно, варианты аллели для -786T>C и Glu298Asp полиморфизмов связаны с диабетической нефропатией [33, 57]. Кроме того, несмотря на то, что при сахарном диабете 2 типа постоянно сообщалось об отсутствии связи между генотипами и гаплотипами NOS3 и диабетической ретинопатией [9, 25, 28, 29], генотип CC для полиморфизма -786T>C ассоциируется с этим

микрососудистым осложнением при сахарном диабете 1 типа [76].

Также необходимо отметить, что пациенты, страдающие от сочетания бронхиальной астмы и сахарного диабета 2 типа, отличаются повышенной частотой встречаемости полиморфизма гена NOS3 894G/T по аллели G в сравнение с теми, у кого диагностирован только сахарный диабет 2 типа или только бронхиальная астма. G-аллель гена NOS3 894G/T, в свою очередь, ассоциируется с увеличенной вероятностью развития сахарного диабета 2 типа у пациентов с бронхиальной астмой [3].

Мигрень

Мигрень является распространенным неврологическим заболеванием, поражающим преимущественно женщин [55]. Несмотря на участие сложных патогенетических механизмов в этом заболевании, существуют убедительные доказательства того, что NO играет ключевую роль в патофизиологии мигрени. NO является важным медиатором в контроле мозгового кровотока и способствует активации ноцицепторов в тройнично-сосудистой системе во время приступа мигрени [60]. Вариации гена NOS3 обуславливают генетическую предрасположенность к мигрени. В связи с этим варианты генотипы полиморфизма -786T>C ассоциируются с восприимчивостью к мигрени [10]. Генотип 'AspAsp' для полиморфизма Glu298Asp ассоциировался с 2-кратным увеличением риска мигрени по сравнению с контрольной группой и 3-кратным увеличением риска мигрени с аурой (преходящие неврологические симптомы, предшествующие приступу мигрени) по сравнению с пациентами с мигренью без ауры [36]. Кроме того, было описано, что полиморфизм Glu298Asp также влияет на интенсивность боли и возраст начала мигрени [10]. В других исследованиях не показано связи между однонуклеотидными полиморфизмами NOS3 и мигренью [50, 54]. Опять же, возможно, что анализ гаплотипов был бы более подходящим для определения генетического вклада в это заболевание. Более поздние исследования, включающие варианты для -786T>C, -665C>T, 4b/4a VNTR, полиморфизмы Glu298Asp и для tagSNP rs743506 показали интересные результаты. Гаплотипы C-C-4a-Glu-G и C-C-4b-Glu-G чаще встречались у женщин с мигренью с

аурой, чем у женщин с мигренью без ауры [50]. Несмотря на отсутствие связи между гаплотипами NOS3 и мигренью, это исследование предполагает, что гаплотипы NOS3 могут влиять на восприимчивость к ауре у пациентов с мигренью. Более того, другие гены, кодирующие другие изоформы NO-синтазы, могут иметь отношение к мигрени [49], и, вероятно, существует серьезное взаимодействие между полиморфизмами NOS3 с другими генетическими вариантами для повышения восприимчивости к мигрени [50].

Заключение. Патогенетическая роль эндогенного NO при различных заболеваниях изучается с двух точек зрения: как фактора, участвующего в индукции и формировании заболевания. Полученные различными учеными противоречивые ассоциации косвенно свидетельствуют о вкладе изучаемого полиморфного маркера гена NOS3 как в развитие заболевания, так и в связанные с ним осложнения, что является основой для коррекции экспрессии позитивных комбинаций, дают информацию о возможности приоритетного и оптимального терапевтического воздействия в каждом конкретном случае.

Возможность регулирования активности NO-синтазы, открывает широкие перспективы в области изучения и лечения различных заболеваний и патологических состояний организма. Поэтому поиск и разработка лекарственных субстанций, в частности препаратов на основе природных нуклеотидов, в настоящее время – одна из актуальнейших задач биологии, биохимии и медицины и является целью наших дальнейших исследований.

Список литературы (References)

1. Аверьянова, И.В. Полиморфизм – 786T>C (rs2070744) гена NOS 3 как фактор риска формирования гемодинамических нарушений жителей-северян / И. В. Аверьянова, И. Н. Безменова // Артериальная гипертензия. – 2023. – Т. 29. – № 4. – С. 411-418.

Averyanova I.V., Bezmenova I.N. Polimorfizm – 786T>S (rs2070744) gena NOS 3 kak faktor riska formirovaniya gemodinamicheskikh narushenij zhitelej-severyan [Polymorphism – 786T>C (rs2070744) of the NOS 3 gene as a risk factor for the formation of hemodynamic

disorders of the Northern residents]. *Arterial'naya Gipertenziya* [Arterial Hypertension]. 2023, vol. 29, no. 4, pp. 411-418. (In Russian)

2. Лукша, А. В. Влияние полиморфизмов 894G/T и T786C гена эндотелиальной синтазы оксида азота на уровень продуктов их экспрессии – eNOS и NO у детей с артериальной гипертензией / А.В. Лукша [и др.] // Практическая медицина. – 2022. – Т. 20. – № 7. – С. 46-51.

Luksha A.V. et al. Vliyanie polimorfizmov 894G/T i T786S gena e'ndotelial'noj sintazy` oksida azota na uroven` produktov ikh e`kspressii – eNOS i NO u detej s arterial'noj gipertenziej [Influence of polymorphisms 894G/T and T786C of endothelial nitric oxide synthase gene on the level of their expression products - eNOS and NO in children with arterial hypertension]. *Prakticheskaya medicina* [Practical Medicine]. 2022, vol. 20, no. 7, pp. 46-51. (In Russian)

3. Пашкевич, А. В. Полиморфизм гена NOS3 (G894T) у пациентов с сочетанием бронхиальной астмы и сахарного диабета 2 типа / А. В. Пашкевич, О. В. Серебрякова // Забайкальский медицинский вестник. – 2024. – № 1. – С. 75-80. DOI : 10.52485/19986173_2024_1_1.

Pashkevich A.V., Serebryakova O.V. Polimorfizm gena NOS3 (G894T) u paczientov s sochetaniem bronkhial'noj astmy` i sakharnogo diabeta 2 tipa [Polymorphism of NOS3 gene (G894T) in patients with a combination of bronchial asthma and diabetes mellitus type 2]. *Zabajkal'skij mediczinskij vestnik* [Transbaikal Medical Bulletin]. 2024, no. 1, pp. 75-80. (In Russian)

4. Шишкина, Е. А. Полиморфизм T786C гена эндотелиальной синтазы оксида азота как фактор риска повторного инфаркта миокарда у больных молодого и среднего возраста / Е.А. Шишкина [и др.] // Медицинский алфавит. – 2020. – № 28. – С. 17-21.

Shishkina E.A. et al. Polimorfizm T786C gena e'ndotelial'noj sintazy` oksida azota kak faktor riska povtornogo infarkta miokarda u bol'ny`kh molodogo i srednego vozrasta [T786C polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene as a risk factor for recurrent myocardial infarction in young and

- middle-aged patients]. *Medicinskiy alfavit* [Medical Alphabet]. 2020, no. 28, pp. 17-21. (In Russian)
5. Полиморфизм гена NOSIII (G894T) и резистентная артериальная гипертензия в узбекской популяции / Ш.М. Машарипов [и др.] // *Journal of cardiorespiratory research = Журнал кардиореспираторных исследований*. – 2023. – № 1. – С. 55-60.
Masharipov Sh.M. et al. Polimorfizm gena NOSIII (G894T) i rezistentnaya arterial'naya gipertenziya v uzbekskoj populyacii [NOSIII gene polymorphism (G894T) and resistant arterial hypertension in the Uzbek population]. *Zhurnal kardiorespiratorny'kh issledovanij* [Journal of cardiorespiratory research]. 2023, no. 1, pp. 55-60. (In Russian)
 6. An endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism is associated with preeclampsia / C.B. Tempfer [et al.] // *Hypertens Pregnancy*. – 2001. – Vol. 20. – P. 107-118.
 7. Analysis of Heart Rate Variability and Implication of Different Factors on Heart Rate Variability / R. Tiwari [et al.] // *Current Cardiology Reviews*. – 2021. – Vol. 17(5). – P. 74-83. DOI: <https://doi.org/10.2174/1573403X16999201231203854>.
 8. Association analyses between genetic polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase gene and hypertension in Japanese: The Suita Study / Y. Tsujita [et al.] // *J Hypertens*. – 2001. – Vol. 19. – P. 1941-1948.
 9. Association between eNOS 4b/a polymorphism and the risk of diabetic retinopathy in type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis / Ze-jun Ma [et al.] // *Journal of Diabetes Research*. – 2014. – Article ID 549747, 8 pages.
 10. Association of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms (894G/T, -786T/C, G10T) and clinical findings in patients with migraine / R. Eroz [et al.] // *NeuroMolecular Medicine*. – 2014. – Vol. 16. – P. 587-593.
 11. Association of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis / Z. Jia [et al.] // *Endocrine Journal*. – 2013. – Vol. 60 (7). – P. 893-901.
 12. Association of eNOS (G894T, rs1799983) and KCNJ11 (E23K, rs5219) gene polymorphism with coronary artery disease in North Indian population / S.T. Raza [et al.] // *African Health Sciences*. – 2021. – Vol. 21, Issue 3. – P. 1163-1171. DOI:10.4314/ahs.v21i3.25.
 13. Association of renin-angiotensin and endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms with blood pressure progression and incident hypertension: prospective cohort study / D. Conen [et al.] // *Journal of Hypertension*. – 2008. – Vol. 26, Issue 9. – P. 1780–1786.
 14. Association of the Glu298Asp polymorphism in the endothelial nitric oxide synthase gene with essential hypertension resistant to conventional therapy / M. Jáchymová // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2001. – Vol. 284, Issue 2. – P. 426-430.
 15. Biochemical consequences of the NOS3 Glu298Asp variation in human endothelium: altered caveolar localization and impaired response to shear / M.S. Joshi [et al.] // *The FASEB Journal*. – 2007. – Vol. 21. – P. 2655-2663.
 16. Biogenesis of short intronic repeat 27-nucleotide small RNA from endothelial nitric oxide synthase gene / M.X. Zhang [et al.] // *J Biol Chem*. – 2008. – Vol. 283. – P. 14685-14693.
 17. Candidate genes and growth curves for adiposity in African- and European-American youth / R.H. Podolsky [et al.] // *Int J Obes (Lond)*. – 2007. – Vol. 31. – P. 1491-1499.
 18. β -Cell-selective regulation of gene expression by nitric oxide / A. Naatz [et al.] // *Physiol Regul Integr Comp Physiol*. – 2024. – Vol. 326, Issue 6. – R552-R566. DOI: 10.1152/ajpregu.00240.2023.
 19. Clinical review: Prevalence and incidence of endocrine and metabolic disorders in the United States: a comprehensive review / S.H. Golden [et al.] // *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2009. – Vol. 94, Iss.6. – P. 1853-1878.
 20. Consistent interethnic differences in the distribution of clinically relevant endothelial nitric oxide synthase genetic polymorphisms / A.S. Marroni [et al.] // *Nitric Oxide*. – 2005. – Vol. 12, Issue 3. – P. 177-182.

21. Cooke, G.E. Endothelial nitric oxide synthase gene: prospects for treatment of heart disease / G.E Cooke, A. Doshi, P.F. Binkley // *Pharmacogenomics*. – 2007. – Vol. 8. – P. 1723-1734.
22. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part I / M.A. Creager [et al.] // *Circulation*. – 2003. – Vol. 108. – P. 1527-1532.
23. Effect of 27nt small RNA on endothelial nitric-oxide synthase expression / M.X. Zhang [et al.] // *Mol Biol Cell*. – 2008. – Vol. 19. – P. 3997-4005.
24. Effects of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms on platelet function, nitric oxide release, and interactions with estradiol / J.E. Tanus-Santos [et al.] // *Pharmacogenetics*. – 2002. – Vol. 12. – P. 407-413.
25. Effects of time-restricted feeding on body weight, body composition and vital signs in low-income women with obesity: A 12-month randomized clinical trial / I.R. De Oliveira Maranhão Pureza [et al.] // *Clinical Nutrition*. – 2021. – Vol. 40(3). – P. 759-766. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2020.06.036>.
26. Endothelial dysfunction and raised plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine in pregnant women who subsequently develop pre-eclampsia / M.D. Savvidou [et al.] // *Lancet*. – 2003. – Vol. 361. – P. 1511-1517.
27. Endothelial nitric oxide synthase: From biochemistry and gene structure to clinical implications of NOS3 polymorphisms / G.H. Oliveira-Paula [et al.] // *Gene*. – 2016. – Vol. 575, Issue 2, Part 3. – P. 584–599. DOI: 10.1016/j.gene.2015.09.061.
28. Endothelial nitric oxide synthase genotype and haplotype are not associated with diabetic retinopathy in diabetes type 2 patients / R.W.C. de Syllos [et al.] // *Nitric Oxide*. – 2006. – Vol. 15 – P. 417-422.
29. Endothelial nitric oxide synthase gene is associated with diabetic macular edema in type 2 diabetes / T. Awata [et al.] // *Diabetes Care*. 2004. – Vol. 27. – P. 2184-2190.
30. Endothelial nitric oxide synthase gene haplotypes and circulating nitric oxide levels significantly associate with risk of essential hypertension / A. Nejatizadeh [et al.] // *Free Radic Biol Med*. – 2008. – Vol. 44. – P. 1912-1918.
31. Endothelial nitric oxide synthase haplotypes associated with hypertension do not predispose to cardiac hypertrophy / V. Vasconcellos [et al.] // *DNA Cell Biol*. – 2010. – Vol. 29. – P. 171-176.
32. Endothelial nitric oxide synthase gene haplotypes affect nitrite levels in black subjects / I.F. Metzger [et al.] // *Pharmacogenomics J*. – 2011. – Vol. 11, Issue 6. – P. 393-399.
33. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and the risk of diabetic nephropathy in type 2 diabetes mellitus / A. Shoukry [et al.] // *Genet Test Mol Biomarkers*. – 2012. – Vol. 16. – P. 574-579.
34. Endothelial nitric oxide synthase polymorphisms are associated with type 2 diabetes and the insulin resistance syndrome / L.D. Monti [et al.] // *Diabetes*. – 2003. – Vol. 52. – P. 1270-1275.
35. Endothelial nitric oxide synthase polymorphism rs3918226 associated with hypertension does not affect plasma nitrite levels in healthy subjects / M.R. Luizon [et al.] // *Hypertension*. – 2012. – Vol. 59, Issue 6. – e52; author reply e53.
36. Endothelial nitric oxide synthase (Glu298Asp) polymorphism is an independent risk factor for migraine with aura / B. Borroni [et al.] // *Headache*. – 2006. – Vol. 46, Issue 10. – P. 1575-1579.
37. Endothelial nitric oxide synthase VNTR (intron 4 a/b) polymorphism association with type 2 diabetes and its chronic complications / M. Mehrab-Mohseni [et al.] // *Diabetes Res Clin Pract*. – 2011. – Vol. 91, Issue 3. – P. 348-352.
38. Endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) and the Cardiovascular System: in Physiology and in Disease States / N. Tran [et al.] // *Am J Biomed Sci Res*. – 2022. – Vol. 15, Iss. 2. – P. 153-177.
39. Endothelial NO synthase genotype and risk of preeclampsia: a multicenter case-control study / N.C. Serrano [et al.] // *Hypertension*. – 2004. – Vol. 44. – P. 702-707.
40. eNOS gene T-786C polymorphism modulates atorvastatin-induced increase in blood nitrite / S. Nagasaki [et al.] // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2006. – Vol. 41, Iss. 7. – P. 1044-1049.

41. eNOS haplotypes affect the responsiveness to antihypertensive therapy in preeclampsia but not in gestational hypertension / V.C. Sandrim [et al.] // *Pharmacogenomics J.* – 2010. – Vol. 10. – P. 40-45.
42. eNOS haplotype associated with hypertension in obese children and adolescents / D.C. Souza-Costa [et al.] // *Int J Obes (Lond).* – 2011. – Vol. 35. – P. 387-392.
43. eNOS polymorphism associated with metabolic syndrome in children and adolescents / J.A. Miranda [et al.] // *Mol Cell Biochem.* – 2013. – Vol. 372. – P. 155-160.
44. eNOS tag SNP haplotypes in hypertensive disorders of pregnancy / Ludmila Muniz [et al.] // *DNA and Cell Biology.* – 2012. – Vol. 31. – P. 1665-1670.
45. eNOS gene polymorphism is associated with endothelium-dependent vasodilation in Type 2 diabetes / M. Komatsu [et al.] // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2002. – Vol. 283. – H557-561.
46. Functional gene testing of the Glu298Asp polymorphism of the endothelial NO synthase / M.P. Schneider [et al.] // *J Hypertens.* – 2000. – Vol. 18. – P. 1767-1773.
47. Gheibi, S. Insulin secretion: The nitric oxide controversy / S. Gheibi, A. Ghasemi // *EXCLI J.* – 2020. – Vol. 19. – P. 1227-1245.
48. Haplotype-specific effects on endothelial NO synthase promoter efficiency: modifiable by cigarette smoking / J. Wang [et al.] // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2002. – Vol. 22. – P. 1-4.
49. Inducible nitric oxide synthase haplotype associated with migraine and aura / T. de O.S. Mansur [et al.] // *Molecular and Cellular Biochemistry.* – 2012. – Vol. 364. – P. 303-308.
50. Interaction among nitric oxide (NO)-related genes in migraine susceptibility/ F.M. Goncalves [et al.] // *Molecular and Cellular Biochemistry.* – 2012. – Vol. 370, Issue 1-2. – P. 183-189.
51. Interaction between the NOS3 gene and obesity as a determinant of risk of type 2 diabetes: the Atherosclerosis Risk in Communities study / J. Bressler [et al.] // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8 (11). – e79466.
52. Intron 4 a/b polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with both type 1 and type 2 diabetes in a genetically homogeneous population / E. Galanakis [et al.] // *Hum Immunol.* – 2008. – Vol. 69. – P. 279-283.
53. Lacchini, R. A pharmacogenetics-based approach to reduce cardiovascular mortality with the prophylactic use of statins / R. Lacchini, P.S.Silva, J.E. Tanus-Santos // *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* – 2010. – Vol. 106. – P. 357-361.
54. Lack of association of endothelial nitric oxide synthase polymorphisms and migraine / M. Toriello [et al.] // *Headache.* – 2008. – Vol. 48. – P. 1115-1119.
55. Migraine prevalence by age and sex in the United States: a life-span study / T.W. Victor [et al.] // *Cephalalgia.* – 2010. – Vol. 30. – P. 1065-1072.
56. No association of the Asp298 variant of the endothelial nitric oxide synthase gene with preeclampsia / R. Landau // *American Journal of Hypertension.* – 2004. – Vol. 17. – P. 391-394.
57. NOS3 894G>T polymorphism is associated with progression of kidney disease and cardiovascular morbidity in type 2 diabetic patients: NOS3 as a modifier gene for diabetic nephropathy? / K. Kuricová [et al.] // *Kidney Blood Press Res.* – 2013. – Vol. 38. – P. 92-98.
58. Nitric oxide deficiency as a cause of clinical hypertension: promising new drug targets for refractory hypertension / G.D. Thomas [et al.] // *Jama.* – 2001. – Vol. 285. – P. 2055-2057.
59. Nitric oxide synthase (NOS) single nucleotide polymorphisms are associated with coronary heart disease and hypertension in the INTERGENE study / A. Levinsson [et al.] // *Nitric Oxide.* – 2014. – Vol. 39. – P. 1-7.
60. Olesen, J. Nitric oxide-related drug targets in headache / J. Olesen // *Neurotherapeutics.* – 2010. – Vol. 7. – P. 183-190.
61. Oliveira-Paula, G.H. Inducible nitric oxide synthase as a possible target in hypertension / G.H. Oliveira-Paula, R. Lacchini, J.E. Tanus-Santos // *Curr Drug Targets.* – 2014. – Vol. 15. – P. 164-174.
62. Polymorphisms of rs1799983 (G>T) and rs1800780 (A>G) of the eNOS gene associated with susceptibility to essential hypertension in the Chinese Hui ethnic

- population / B. Yang [et al.] // *Genet Mol Res.* – 2013. – Vol. 12. – P. 3821-3829.
63. Qian, J. Post-translational regulation of endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelium / J. Qian, D. Fulton // *Frontiers in Physiology.* – 2013. – Vol. 4. – P. 347.
64. Replication protein A1 reduces transcription of the endothelial nitric oxide synthase gene containing a -786T-->C mutation associated with coronary spastic angina / Y. Miyamoto [et al.] // *Human Molecular Genetics.* – 2000. – Vol. 9. – P. 2629-2637.
65. Role of nitric oxide in insulin secretion and glucose metabolism / Z. Bahadoran [et al.] // *Trends Endocrinol Metab.* – 2020. – Vol. 31. – P. 118–130.
66. Sansbury, B.E. Regulation of obesity and insulin resistance by nitric oxide / B.E. Sansbury, B.G. Hill // *Free Radical Biology and Medicine.* – 2014. – Vol. 73. – P. 383-399.
67. Susceptible and protective eNOS haplotypes in hypertensive black and white subjects / V.C. Sandrim [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2006. – Vol. 186. – P. 428-432.
68. Target sequencing, cell experiments, and a population study establish endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene as hypertension susceptibility gene / E. Salvi [et al.] // *Hypertension.* – 2013. – Vol. 62. – P. 844-852.
69. Targeting autonomic nervous system as a biomarker of well-ageing in the prevention of stroke / J.-C. Barthelemy [et al.] // *Frontiers in Aging Neuroscience.* – 2022. – Vol. 14. – P. 969352. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procs.2021.12.127>.
70. The analysis of heart rate variability properties and body mass index in representing health quality information / I.A. Hassya [et al.] // *Procedia Computer Science.* – 2022. – Vol. 197(12). – P. 135-142. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procs.2021.12.127>.
71. The association between endothelial nitric oxide synthase gene G894T polymorphism and hypertension in Han Chinese: a case-control study and an updated meta-analysis / J. Liu [et al.] // *Annals of Human Biology.* – 2015. – Vol. 42, Issue 2. – P. 184-194.
72. The effects of endothelial nitric oxide synthase tagSNPs on nitrite levels and risk of hypertension and obesity in children and adolescents / J.A. De Miranda [et al.] // *Journal of human hypertension.* – 2015. – Vol. 29, Iss. 2. – P. 109-114.
73. The polymorphism for endothelial nitric oxide synthase gene, the level of nitric oxide and the risk for pre-eclampsia: a meta-analysis / B. Dai [et al.] // *Gene.* – 2013. – Vol. 519, Iss.1. – P. 187-193.
74. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report / A.V. Chobanian [et al.] // *Jama.* – 2003. – Vol. 289. – P. 2560-2572.
75. The significance of -786T > C polymorphism of endothelial NO synthase (eNOS) gene in severe preeclampsia / A. Seremak-Mrozikiewicz [et al.] // *J Matern Fetal Neonatal Med.* – 2011. – Vol. 24. – P. 432-436.
76. The T-786C and C774T endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms independently affect the onset pattern of severe diabetic retinopathy / M.J. Taverna [et al.] // *Nitric Oxide.* – 2005. – Vol. 13. – P. 88-92.
77. The T-786-->C mutation in endothelial nitric oxide synthase is associated with hypertension / M.E. Hyndman [et al.] // *Hypertension.* – 2002. – Vol. 39, Issue 4. – P. 919-922.
78. The functional consequence of the Glu298Asp polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene in young healthy volunteers / V. Godfrey [et al.] // *Cardiovasc Drug Rev.* – 2007. – Vol. 25, Iss.3. – P. 280-288.
79. Three endothelial nitric oxide (NOS3) gene polymorphisms in hypertensive and normotensive individuals: meta-analysis of 53 studies reveals evidence of publication bias / T.V. Pereira [et al.] // *Journal of Hypertension.* – 2007. – Vol. 25, Iss. 9. – P. 1763-1774.
80. Yagil, Y. Candidate genes, association studies and haplotype analysis in the search for the genetic basis of hypertension / Y. Yagil, C. Yagil // *J Hypertens.* – 2004. – Vol. 22. – P. 1255-1258.

Received 12 April 2024