

**ОСОБЛИВОСТІ КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНИХ ПОКАЗНИКІВ ПРИ АЛКОГОЛЬНІЙ ХВОРОБИ ПЕЧІНКИ У ПОЄДНАННІ З АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ ЗАЛЕЖНО ВІД ПОЛІМОРФІЗМУ T786C ГЕНА ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ NO-СИНТАЗИ****В.Є. Молодцов**

Комунальне некомерційне підприємство Миколаївської міської ради «Міська лікарня №1», м. Миколаїв, Україна

**Ключові слова:**

алкогольна хвороба печінки, поліморфізм T786C гена eNOS, ендотелій, оксидативний стрес, гемостаз.

Буковинський медичний вісник. Т.24, № 2 (94). С. 70-78.

**DOI:**

10.24061/2413-0737.  
XXIV.2.94.2020.46

**E-mail:** valeriy.molodtsov70@gmail.com

**Мета роботи.** Оцінити взаємозв'язок між генотипами гена eNOS (T786C) та деякими клініко-лабораторними показниками у хворих на алкогольну хворобу печінки (АХП) у поєднанні з артеріальною гіпертензією (АГ).

**Матеріал і методи.** Обстежено 97 пацієнтів із встановленим діагнозом АХП: 62 хворих на АХП з АГ (група А) та 35 пацієнтів на АХП (група Б). Визначали вміст у сироватці крові С-реактивного білка, фактора некрозу пухлин- $\alpha$  (ФНПа), трансформуючого фактора росту- $\beta$ 1 (ТФР $\beta$ 1), інтерлейкіну-10 (ІЛ-10), 8-ізопростану, Д-димеру - за допомогою імуноферментного аналізу. Функціональний стан ендотелію оцінювали за вмістом у крові стабільних метаболітів монооксиду нітрогену (нітритів/нітратів), ендотеліну-1 (ЕТ-1), молекул міжклітинної адгезії-1 (ICAM-1). Загальний коагуляційний потенціал крові (час рекальцифікації плазми (ЧРП), протромбіновий час (ПЧ), тромбіновий час (ТЧ), активований парціальний тромбoplastиновий час (АПТЧ)), рівень фібриногену в плазмі крові, активність антитромбіну III (АТIII), активність фактора XIII (Ф XIII) визначали за традиційними методиками. Досліджували також спонтанну агрегацію тромбоцитів. Для визначення мутації eNOS (T786C), rs2070744 використовували протокол з олігонуклеотидними праймерами із застосуванням методу алейспецифічної ПЛР.

**Результати.** При вивченні частоти генотипів за поліморфним варіантом гена eNOS (T786C) встановлено, що частота ТТ генотипу серед хворих на АХП із АГ становила – 46,8%, СТ - 57,1% та СС – 17,2%. Серед хворих на АХП виявлений такий розподіл генотипів: ТТ – 25,7%, СТ – 57,1% та СС – 17,2%. Нами виявлена достовірна різниця між групою хворих на АХП з АГ та ізольованою групою АХП за генотипом ТТ.

Встановлено, що рівень ЕТ-1 та молекула міжклітинної адгезії ICAM-1 були істотно вищими у хворих на АХП з АГ за ТТ генотипу порівняно з ізольованим перебігом АХП. Проте рівень загального оксиду азоту за поєднаного перебігу АХП з АГ був нижчим, ніж у хворих на АХП без АГ при наявності даного генотипу. Водночас за поєднаного перебігу АХП та АГ рівень системного запалення та оксидативного стресу асоціюється із ТТ генотипом гена eNOS (T786C).

При вивченні стану гемостазу за поєднаного перебігу АХП та АГ виявлено, що АЧТВ за генотипу ТТ на 17,7% була вищою, ніж у групі Б. Даний показник мав різницю також і в середині групи між генотипами ТТ і СТ (на 13,1%) та ТТ і СС (на 28,3%). Рівень Д-димеру між групою А та Б мав також достовірну різницю за ТТ генотипу (вищий на 14,7% за поєднання АХП та АГ). Спонтанна агрегація тромбоцитів була достовірно вищою на 7,7% у хворих на АХП з АГ за генотипу ТТ. В останній групі пацієнтів XIII фактор виявився достовірно нижчим на 12,6% порівняно з групою хворих на АХП. Такі показники, як час рекальцифікації плазми, протромбіновий індекс та час, тромбіновий час достовірно не відрізнялися між групами пацієнтів.

**Висновок.** Розвиток артеріальної гіпертензії у хворих на алкогольну хворобу печінки асоційований із наявністю гомозиготного генотипу ТТ за

поліморфним варіантом гена *eNOS* (T786C). Встановлено, що у хворих на алкогольну хворобу печінки з артеріальною гіпертензією за ТТ генотипу спостерігаються вищий рівень *ET-1* та молекули міжклітинної адгезії *ICAM-1* при нижчому рівні загального оксиду азоту порівняно із хворими на алкогольну хворобу печінки. Максимально вірогідні відмінності показників системного запалення (*IL-10*, *CRP*, *ТФРβ1*) та маркера оксидативного стресу (*8-ізопростан*) характерні для ТТ генотипу за поліморфним варіантом гена *eNOS* (T-786C) у хворих на алкогольну хворобу печінки з артеріальною гіпертензією порівняно із ізольованим перебігом алкогольної хвороби печінки. Такі показники системи гемостазу як *АЧТВ*, антитромбін III, *Д-димер*, спонтанна агрегація тромбоцитів та фактор XIII були асоційовані із ТТ генотипом у хворих на алкогольну хворобу печінки з артеріальною гіпертензією за поліморфним варіантом гена *eNOS* (T-786C).

**Ключевые слова:**

алкогольная болезнь печени, полиморфизм T786C гена *eNOS*, эндотелий, оксидативный стресс, гемостаз.

Буковинский медицинский вестник. Т.24, № 2 (94). С. 70-78.

**ОСОБЕННОСТИ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ В СОЧЕТАНИИ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛИМОРФИЗМА T786C ГЕНА ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ NO-СИНТАЗЫ**

**В.Е. Молодцов**

**Цель работы.** Оценить взаимосвязь между генотипами гена *eNOS* (T786C) и некоторыми клинико-лабораторными показателями у больных с алкогольной болезнью печени (АБП) в сочетании с артериальной гипертензией (АГ). **Материал и методы.** Обследовано 97 пациентов с установленным диагнозом АБП 62 больных АБП с АГ (группа А) и 35 пациентов на АБП (группа Б). Определяли содержание в сыворотке крови *C-реактивного белка*, фактора некроза опухолей- $\alpha$  (*ФНПа*), трансформирующего фактора роста - $\beta 1$  (*ТФРβ1*), интерлейкина-10 (*ИЛ-10*), *8-изопростана*, *Д-димера* - с помощью иммуноферментного анализа. Функциональное состояние эндотелия оценивали по содержанию в крови стабильных метаболитов оксида азота (*нитритов / нитратов*), *эндотелина-1* (*ЭТ-1*), молекул межклеточной адгезии-1 (*ICAM-1*). Общий коагуляционный потенциал крови (*время рекальцификации плазмы* (*ВРП*), *протромбиновое время* (*ПВ*), *тромбиновое время* (*ТВ*), *активированное парциальное тромбопластиновое время* (*АПТВ*)), *уровень фибриногена* в плазме крови, *активность антитромбина III* (*АТIII*), *активность фактора XIII* (*ФXIII*) определяли по традиционным методикам. Исследовали также спонтанную агрегацию тромбоцитов. Для определения мутации *eNOS* (T786C), *rs2070744* использовали протокол с олигонуклеотидными праймерами с применением метода аллельспецифической ПЦР.

**Результаты.** При изучении частоты генотипов по полиморфному варианту гена *eNOS* (T786C) установлено, что частота ТТ генотипа среди больных АБП с АГ составила - 46,8%, СТ - 57,1% и СС - 17,2%. Среди больных АБП обнаружено следующее распределение генотипов: ТТ - 25,7%, СТ - 57,1% и СС - 17,2%. Нами были выявлены достоверные отличия между группой больных АБП с АГ и изолированной группой АБП по генотипу ТТ.

Установлено, что уровень *ЭТ-1* и молекулы межклеточной адгезии *ICAM-1* были существенно выше у больных АБП с АГ с ТТ генотипом по сравнению с изолированным течением АБП. Однако, уровень общего оксида азота при сочетанном течении АБП с АГ был ниже, чем у больных АБП без АГ при наличии данного генотипа. В то же время при сочетанном течении

## Оригінальні дослідження

*АБП и АГ уровень системного воспаления и оксидативного стресса ассоциируется с ТТ генотипом гена eNOS (T786C).*

*При изучении состояния гемостаза при сочетанном течении АБП и АГ выявлено, что АПТВ при генотипе ТТ на 17,7% было выше, чем в группе Б. Данный показатель отличался также и в середине группы между генотипами ТТ и СТ (на 13,1%) и ТТ и СС (на 28,3%). Уровень Д-димера между группой А и Б также достоверно различался при ТТ генотипе (выше на 14,7% при сочетании АБП и АГ). Спонтанная агрегация тромбоцитов была достоверно выше на 7,7% у больных АБП с АГ при генотипе ТТ. В последней группе пациентов XIII фактор оказался достоверно ниже на 12,6% по сравнению с группой больных АХП. Такие показатели как время рекальцификации плазмы, протромбиновый индекс и время, тромбиновое время достоверно не отличались между группами пациентов.*

**Вывод.** Развитие артериальной гипертензии у больных алкогольной болезнью печени, ассоциированной с наличием гомозиготного генотипа ТТ по полиморфному варианту гена eNOS (T786C). Установлено, что у больных алкогольной болезнью печени с артериальной гипертензией при ТТ генотипе наблюдается высокий уровень ЭТ-1 и молекулы межклеточной адгезии ICAM-1 при низком уровне общего оксида азота по сравнению с больными алкогольной болезнью печени. Максимально возможные различия показателей системного воспаления (ИЛ-10, СРБ, ТФРβ1) и маркера оксидативного стресса (8-изопростан) характерны для ТТ генотипа по полиморфному варианту гена eNOS (T786C) у больных алкогольной болезнью печени с артериальной гипертензией по сравнению с изолированным течением алкогольной болезнью печени. Такие показатели системы гемостаза как АЧТВ, антитромбин III, Д-димер, спонтанная агрегация тромбоцитов и фактор XIII были ассоциированы с ТТ генотипом у больных алкогольной болезнью печени с артериальной гипертензией по полиморфному варианту гена eNOS (T786C).

**Key words:** alcoholic liver disease, eNOS gene T786C polymorphism, endothelium, oxidative stress, hemostasis.

*Bukovinian Medical Herald. V.24, № 2 (94). P. 70-789.*

### **FEATURES OF CLINICAL AND LABORATORY INDICATORS IN ALCOHOLIC LIVER DISEASE IN COMBINATION WITH ARTERIAL HYPERTENSION DEPENDING ON T786C POLYMORPHISM OF THE eNOS GENE**

**V.E. Molodtsov**

**The goal of the work.** Assess the relationship between eNOS gene genotypes (T786C) and some clinical and laboratory parameters in patients with alcoholic liver disease (ALD) in combination with arterial hypertension (AH).

**Material and methods.** 97 patients diagnosed with AHP were examined: 62 patients with ALD with AH (group A) and 35 patients with ALD (group B). Serum content of C-reactive protein, tumor necrosis factor-α (TNFα), transforming growth factor-β1 (TGFβ1), interleukin-10 (IL-10), 8-isoprostane, D-dimer was determined by enzyme-linked immunosorbent assay. The functional state of the endothelium was assessed by the content in the blood of stable metabolites of nitrogen monoxide (nitrites / nitrates), endothelin-1 (ET-1), intercellular adhesion molecules-1 (ICAM-1). Total blood coagulation potential (plasma recalcification time), prothrombin time (PT), thrombin time (TT), activated partial thromboplastin time (APTT), plasma fibrinogen levels, antithrombin III (ATIII) activity, factor XIII (F XIII) activity was determined by traditional methods. Spontaneous platelet aggregation was also studied. To determine the eNOS mutation (T786C), rs2070744 used a protocol with oligonucleotide

primers using the method of allele-specific PCR.

**Results.** When studying the frequency of genotypes by the polymorphic variant of the eNOS gene (T786C), it was found that the frequency of TT genotype among patients with ALD with hypertension was 46.8%, CT - 57.1% and SS - 17.2%. Among patients with ALD, the following distribution of genotypes was found: TT - 25.7%, ST - 57.1% and SS - 17.2%. We found a significant difference between the group of patients with ALD with AH and the isolated group of ALD by TT genotype.

It was found that the level of ET-1 and the intercellular adhesion molecule (ICAM-1) were significantly higher in patients with ALD with AH by TT genotype compared with the isolated course of ALD. However, the level of total nitric oxide in the combined course of ALD with hypertension was lower than in patients with ALD without hypertension in the presence of this genotype. At the same time, in the combined course of ALD and hypertension, the level of systemic inflammation and oxidative stress is associated with the TT genotype by a polymorphic variant of the eNOS gene (T786C).

When studying the state of hemostasis in the combined course of ALD and hypertension, it was found that APTT for the TT genotype was 17.7% higher than in group B. This indicator also had a difference in the middle group between the TT and CT genotypes (by 13.1%) and TT and CC (by 28.3%). The level of D-dimer between groups A and B also had a significant difference in the TT genotype (higher by 14.7% for the combination of ALD and AH). Spontaneous platelet aggregation was significantly higher by 7.7% in patients with ALD with hypertension by TT genotype. In the latter group of patients, factor XIII was significantly lower by 12.6% compared with the group of patients with ALD. Indicators such as plasma recalcification time, prothrombin index and time, thrombin time did not differ significantly between groups of patients.

**Conclusion.** The development of hypertension in patients with ALD is associated with the presence of a homozygous TT genotype for a polymorphic variant of the eNOS gene (T786C). It was found that in patients with ALD with hypertension by TT genotype higher levels of ET-1 and intercellular adhesion molecules ICAM-1 are observed at a lower level of total nitric oxide compared with patients with ALD. The most probable differences in systemic inflammation (IL-10, CRP, TGF $\beta$ 1) and oxidative stress marker (8-isoprostane) are characteristic of the TT genotype for the polymorphic variant of the eNOS gene (T786C) in patients with ACP with hypertension compared with the isolated course of ALD. Hemostasis parameters such as APTT, antithrombin III, D-dimer, spontaneous platelet aggregation and factor XIII were associated with the TT genotype in patients with ALD with hypertension by the polymorphic variant of the eNOS gene (T786C).

**Вступ.** Визначенню генетичних маркерів ризику алкогольної хвороби печінки (АХП) присвячено ряд робіт упродовж останнього десятиріччя. Розвиток та перебіг АХП зумовлюється та модифікується генетичним поліморфізмом і взаємодією генів із численними чинниками, серед яких важливе місце посідають кількість споживаного алкоголю, наявність вірусного ураження печінки та супутні захворювання пацієнтів [1].

Наявність вірусного ураження та супутні захворювання, за даними деяких авторів, не завжди визначають фенотип прогресуючого ураження печінки. Виявлено генотипові особливості хворих, пов'язані із швидшим розвитком цирозу [2]. Але ізольований аналіз вказаних

потенційних біологічних маркерів не в змозі відповісти на всі практичні питання, у тому числі щодо можливостей прогнозування ризику розвитку та перебігу АХП.

Порушення функціонування ендотелію судин відіграє важливу роль у розвитку серцево-судинних захворювань, виникненні цирозу печінки та прогресуванні його ускладнень [3]. У хворих на алкогольний гепатит експресія гена eNOS не змінюється, але спостерігається зменшення ферментативної активності eNOS [4]. Водночас встановлено, що незалежним чинником ризику виникнення портальної гіпертензії у хворих на цироз печінки є наявність Т-алеля гена eNOS [5]. В одному з досліджень доведено, що Т894G поліморфізм гена

## Оригінальні дослідження

eNOS у хворих на цироз печінки детермінує тяжкість ушкодження серцево-судинної системи [6].

Тому актуальним є подальше вивчення ролі поліморфізму T786C гена eNOS у розвитку і прогресуванні АХП.

**Мета роботи.** Оцінити взаємозв'язок між генотипами гена eNOS (T786C) та деякими клініко-лабораторними показниками у хворих на АХП.

**Матеріал і методи.** Обстежено 97 пацієнтів із встановленим діагнозом алкогольної хвороби печінки: 62 хворих на АХП з АГ (група А) та 35 пацієнтів на АХП (група Б). З урахуванням поліморфізму T786C ендотеліальної NO-синтази (eNOS) кожна з обстежених груп була розподілена на три підгрупи: з ТТ-генотипом (29 і 9 пацієнтів відповідно), з ТС-генотипом (26 і 22 пацієнти відповідно), з СС-генотипом (7 та 4 пацієнти відповідно).

Діагноз АХП встановлювали на підставі анамnestичних, клінічних, лабораторних (біохімічних, серологічних, імунологічних) даних, визначення сироваткових маркерів вірусних гепатитів В і С, результатів ультразвукового та морфологічного дослідження печінки. Для розпізнавання прихованої алкогольної залежності та для виявлення соматичних еквівалентів хронічної алкогольної інтоксикації використана «сітка LeGo».

Діагноз есенційної артеріальної гіпертензії (АГ) встановлювався на підставі настанови Європейського кардіологічного товариства (2013) та вітчизняного «Уніфікованого клінічного протоколу екстреної, первинної, вторинної та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги: Артеріальна гіпертензія» (Наказ МОЗ України № 384 від 24.05.2012 року).

Визначали вміст у сироватці крові С-реактивного білка, фактора некрозу пухлин- $\alpha$  (ФНПа), трансформуючого фактора росту- $\beta$ 1 (ТФР $\beta$ 1), інтерлейкіну-10 (ІЛ-10), 8-ізопростану, Д-димеру - за допомогою імуноферментного аналізу. Функціональний стан ендотелію оцінювали за вмістом у крові стабільних метаболітів монооксиду нітрогену (нітритів/нітратів), ендотеліну-1 (ЕТ-1), молекул міжклітинної адгезії-1 (ICAM-1). Загальний коагуляційний потенціал крові (час рекальцифікації плазми (ЧРП), протромбіновий час (ПЧ), тромбіновий час (ТЧ), активований парціальний тромбoplastиновий час (АПТЧ)), рівень фібриногену

в плазмі крові, активність антитромбіну III (АТIII), активність фактора XIII (Ф XIII) визначали за традиційними методиками. Досліджували також спонтанну агрегацію тромбоцитів.

Геному ДНК для молекулярно-генетичного дослідження виділяли з периферичної крові за допомогою комерційної тест-системи "innuPREP Blood DNA Mini Kit" (Analytik Jena, Німеччина) з використанням центрифужних фільтрів. Для визначення мутації eNOS (T786C), rs2070744 використовували протокол з олігонуклеотидними праймерами 7 із застосуванням методу алельспецифічної ПЛР. Досліджувані ділянки генів ампліфікували за допомогою специфічних праймерів («Metabion», Німеччина). Специфічні фрагменти гена eNOS (T786C) ампліфікували із застосуванням комерційного набору DreamTaq Green PCR Master Mix (фірми «Thermo Scientific», США).

Для оцінки розподілу генотипів і алелів між групами використовували двосторонній тест Пірсона  $\chi^2$ . Розрахунки проводились з використанням програми Statistica, версія 10,0.

**Результати дослідження та їх обговорення**

При вивченні частоти генотипів за поліморфним варіантом гена eNOS (T786C) (табл. 1) встановлено, що частота ТТ - генотипу серед хворих на АХП із АГ становила – 46,8%, СТ - 57,1% та СС – 17,2%. Серед хворих на АХП виявлений такий розподіл генотипів: ТТ – 25,7%, СТ – 57,1% та СС – 17,2%. Нами виявлена достовірна різниця між групою хворих на АХП з АГ та ізольованою групою АХП за генотипом ТТ.

З погляду на встановлені значущі відмінності надзвичайно важливою була оцінка взаємозв'язку між досліджуваними генотипами та клініко-лабораторними показниками.

При аналізі показників функціонального стану ендотелію встановлено, що рівень ЕТ-1 у хворих на АХП із АГ за наявності Т-алеля достовірно був (на 25,4% між ТТ-генотипом та на 11,4% між СТ-генотипом) вищим порівняно із таким показником у хворих на ізольовану АХП (табл. 2).

Встановлена також достовірна різниця між генотипами в середині групи із поєднаним перебігом АХП та АГ, а саме між ТТ і СТ генотипом (на 9,8%) та ТТ і СС - генотипом (на 16,2%). Загальний оксид азоту достовірно мав різницю між групою А та групою Б за

Таблиця 1

**Розподіл частот генотипів гена eNOS rs2070744 (T786C) у хворих на алкогольну хворобу печінки з артеріальною гіпертензією та без артеріальної гіпертензії**

Ген	Генотип	Хворі на АХП з АГ n = 62		Хворі на АХП n = 35		$\chi^2$	OR	95%CI	p
		n	%	n	%				
eNOS (T-786C)	ТТ	29	46,8	9	25,7	4,164	2,54	1,02-6,29	0,044
	ТС	26	41,9	20	57,1	2,075	0,54	0,23-1,25	0,152
	СС	7	11,3	6	17,2	0,660	0,62	0,19-2,00	0,419

**Таблиця 2**

**Показники функціонального стану ендотелію та системного запалення у пацієнтів на АХП із АГ залежно від поліморфізму гена eNOS (T786C)**

Показники	Генотип	Хворі на АХП з АГ (група А) n <sub>TT</sub> =29 n <sub>TC</sub> =26 n <sub>CC</sub> =7	Хворі на АХП (група Б) n <sub>TT</sub> =9 n <sub>TC</sub> =22 n <sub>CC</sub> =4	P <sub>A-B</sub>
Ендотелін-1, пмоль/л	ТТ	19,33±0,47	15,41±0,93	<0,05
	ТС	17,61±0,51 P <sub>TT</sub> <0,05	15,81±0,50	<0,05
	СС	16,64±1,09 P <sub>TT</sub> <0,05	14,83±0,93	>0,05
Загальний оксид азоту, мкмоль/л	ТТ	113,69±5,59	141,89±12,64	<0,05
	ТС	112,07±5,03	119,50±6,93	>0,05
	СС	124,00±7,48	119,25±8,08	>0,05
ІСАМ - I молекули міжклітинної адгезії, од/мл	ТТ	285,40±3,01	259,51±5,49	<0,05
	ТС	267,63±3,50 P <sub>TT</sub> <0,05	260,10±3,01	>0,05
	СС	267,53±6,66 P <sub>TT</sub> <0,05	260,13±10,26	>0,05
СРБ, мг/л	ТТ	37,28±1,83	27,67±4,00	<0,05
	ТС	28,42±2,18 P <sub>TT</sub> <0,05	25,82±3,01	>0,05
	СС	29,14±4,44	23,00±5,57	>0,05
ФНПа, пг/мл	ТТ	10,41±0,35	9,58±0,57	>0,05
	ТС	9,21±0,30 P <sub>TT</sub> <0,05	9,51±0,33	>0,05
	СС	9,28±0,32	8,27±0,52	>0,05
ТФРβ1, пг/мл	ТТ	41,23±0,53	38,26±1,14	<0,05
	ТС	37,28±0,79 P <sub>TT</sub> <0,05	38,42±0,68	>0,05
	СС	37,34±0,61	37,08±2,56	>0,05
ІЛ-10, пг/мл	ТТ	11,38±0,39	9,64±0,56	<0,05
	ТС	9,35±0,35 P <sub>TT</sub> <0,05	9,36±0,26	>0,05
	СС	8,93±0,56 P <sub>TT</sub> <0,05	9,08±0,81	>0,05
8-ізопростан	ТТ	2,06±0,05	1,68±0,09	<0,05
	ТС	1,78±0,07 P <sub>TT</sub> <0,05	1,60±0,05	<0,05
	СС	1,72±0,07	1,53±0,06	>0,05

генотипом ТТ, проте за поєданого перебігу АХП та АГ даний показник був на 19,9% нижчим. Молекула міжклітинної адгезії ІСАМ у хворих на АХП, поєднану з АГ із генотипом ТТ мала різницю із таким же генотипом у хворих на АХП та із генотипами СТ та СС у середині групи.

Відомо, що продукція NO з L-аргініну регулюється ендотеліальною синтазою монооксиду нітрогену [7], що має значний вплив на регуляцію тонуусу судин та контролі артеріального тиску. Зниження базаль-

ної продукції NO може призводити до розвитку АГ, тромбозу та вазоспазму. Багатьма дослідженнями в різних популяціях показана асоціація розвитку АГ із поліморфізмом гена eNOS, зокрема із Т786С [8, 9, 10, 11]. З іншого боку, доведена потенційна роль NO в абдомінальній гемодинаміці при захворюваннях печінки. Згідно з даними деяких досліджень NO підвищується в периферичній циркуляції у пацієнтів із цирозом [12].

Показана асоціація Т786С із зниженням продукції рівня NO. У дослідженні O. Yildirim et al. продемонст-

## Оригінальні дослідження

ваний низький рівень NO у крові як при стабільному перебігу цирозу печінки, так і за наявності асцити, проте вони не показали різниці в дистрибуції генотипів серед здорових та при цирозі печінки [13].

Отже, за результатами нашого дослідження встановлено, що рівень ET-1 та молекула міжклітинної адгезії ICAM значно були вищими у хворих на АХП з АГ за ТТ-генотипу порівняно з ізольованим перебігом АХП. Проте рівень загального оксиду азоту за поєднаного перебігу АХП з АГ був нижчим, ніж у хворих на АХП без АГ при наявності даного генотипу. Можна припустити, що для супутньої АГ характерним є зниження його рівня в крові порівняно із хворими із ізольованим перебігом АХП.

При вивченні показників системного запалення встановлено, що рівень СРБ між групами А та Б мав різницю за генотипу ТТ (на 34,7% у хворих на АХП з АГ був вищим). Сироватковий рівень ІЛІ-10 та ТФРβ1 в останній групі пацієнтів за генотипу ТТ були достовірно вищим, ніж у пацієнтів із ізольованим перебігом АХП (на 18,0% та 7,8% відповідно).

Відомо, що оксидативний стрес бере участь у розвитку та прогресуванні захворювань печінки, у тому числі при етанол-індукованих пошкодженнях печінки [14]. Останнім часом активно вивчають роль 8-ізопростану як маркера оксидативного стресу та антиоксидантної недостатності. Виявлено, що за Т-алеля у хворих на АХП з АГ рівень 8-ізопростану достовірно

Таблиця 3

Показники системи гемостазу у пацієнтів з АГ та АХП залежно від поліморфізму гена eNOS (T786C)

Показники	Генотип	Хворі на АХП з АГ (група А) n <sub>ТТ</sub> =29 n <sub>ТС</sub> =26 n <sub>СС</sub> =7	Хворі на АХП (група Б) n <sub>ТТ</sub> =9 n <sub>ТС</sub> =22 n <sub>СС</sub> =4	P <sub>А-Б</sub>
Час рекальцифікації плазми, С	ТТ	125,66±4,24	126,33±7,37	>0,05
	ТС	130,46±1,83	129,86±4,33	>0,05
	СС	125,86±4,14	119,75±4,33	>0,05
Протромбіновий індекс, %	ТТ	68,21±2,65	63,89±4,51	>0,05
	ТС	70,25±2,19	70,41±3,19	>0,05
	СС	68,86±3,44	67,50±4,03	>0,05
Протромбіновий час, С	ТТ	17,80±0,67	16,56±0,75	>0,05
	ТС	16,99±0,70	17,58±0,81	>0,05
	СС	17,27±1,79	18,33±2,54	>0,05
Тромбіновий час, С	ТТ	17,82±0,74	17,58±0,89	>0,05
	ТС	18,09±0,87	16,64±0,84	>0,05
	СС	18,43±1,65	18,85±1,58	>0,05
АПТЧ, С	ТТ	38,31±1,72	32,56±1,75	<0,05
	ТС	33,88±1,04 P <sub>ТТ</sub> <0,05	33,37±1,27	>0,05
	СС	29,86±0,96 P <sub>ТТ</sub> <0,05	31,50±1,85	>0,05
Антитромбін III, %	ТТ	89,04±2,04	92,22±4,79	>0,05
	ТС	87,62±1,77	94,05±2,76	<0,05
	СС	89,57±2,43	82,75±5,19	>0,05
Д-димер, нг/мл	ТТ	208,76±6,99	182,00±8,77	<0,05
	ТС	196,65±6,94	179,36±8,04	>0,05
	СС	192,29±12,67	185,00±13,23	>0,05
Спонтанна агрегація тромбоцитів	ТТ	79,10±1,26	73,44±2,30	<0,05
	ТС	72,38±1,44	74,95±1,74	>0,05
	СС	74,86±5,43	74,75±2,36	>0,05
Фактор XIII, %	ТТ	58,48±1,35	66,89±1,70	<0,05
	ТС	56,19±1,73	55,30±1,90	>0,05
	СС	52,86±5,28	55,75±3,82	>0,05

був вищим, ніж у групі пацієнтів з ізольованим перебігом АХП (на 22,6% між ТТ-генотипами та 11,25% між СТ - генотипами, відповідно). Так, в одному з експериментальних досліджень показано підвищення вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів у групі з етанол-індукованим пошкодженням печінки [14].

Отже, результати наших досліджень свідчать про те, що за поєданого перебігу АХП та АГ рівень системного запалення та оксидативного стресу асоціюється із ТТ - генотипом за поліморфним варіантом гена eNOS (T786C).

Відомо, що гепатоцит є основним місцем синтезу усіх білків згортальної системи крові як прокоагулянтів, так і інгібіторів згортання. Для хронічних дифузних захворювань печінки, зокрема для АХП, є зниження кількості цих білків у різній пропорції, тобто розвиток дисбалансу про- та антикоагулянтів [15, 16]. Відомо також, що при серцево-судинних захворюваннях, зокрема при АГ, теж відбуваються зміни з боку гемостазу.

При вивченні стану гемостазу за поєданого перебігу АХП та АГ виявлено, що АПТЧ за генотипу ТТ на 17,7% була вищою ніж у групі Б (табл. 3). Даний показник мав різницю також і в середині групи між генотипами ТТ і СТ (на 13,1%) та ТТ і СС (на 28,3%).

Рівень Д-димеру між групою А та Б мав також достовірну різницю за ТТ - генотипу (вищий на 14,7% за поєдання АХП та АГ). Спонтанна агрегація тромбоцитів була достовірно вищою на 7,7% у хворих на АХП з АГ за генотипу ТТ. В останній групі пацієнтів XIII фактор виявився достовірно нижчим на 12,6% порівняно із групою хворих на АХП. Такі показники, як час рекальцифікації плазми, протромбіновий індекс та час, тромбіновий час достовірно не відрізнялися між групами пацієнтів.

#### Висновки

1. Розвиток артеріальної гіпертензії у хворих на алкогольну хворобу печінки асоційований із наявністю гомозиготного генотипу ТТ за поліморфним варіантом гена eNOS (T786C).

2. Встановлено, що у хворих на алкогольну хворобу печінки з артеріальною гіпертензією за ТТ - генотипу спостерігаються вищий рівень ET-1 та молекули міжклітинної адгезії ICAM-1 при нижчому рівні загального оксиду азоту порівняно із хворими на алкогольну хворобу печінки.

3. Максимально вірогідні відмінності показників системного запалення (ІЛ-10, СРБ, ТФРβ1) та маркеру оксидативного стресу (8-ізопростан) характерні для ТТ - генотипу за поліморфним варіантом гена eNOS (T786C) у хворих на алкогольну хворобу печінки з артеріальною гіпертензією порівняно з ізольованим перебігом алкогольної хвороби печінки.

4. Такі показники системи гемостазу, як АПТЧ, антитромбін III, Д-димер, спонтанна агрегація тромбоцитів та фактор XIII були асоційовані із ТТ - генотипом у хворих на алкогольну хворобу печінки з артеріальною гіпертензією за поліморфним варіантом гена eNOS (T786C).

**Перспективи подальших досліджень.** Перспективним є клінічно-патогенетичне обґрунтування диференційованого лікування алкогольної хвороби печінки у поєднанні з артеріальною гіпертензією залежно від поліморфізму гена eNOS (T786C).

#### Список літератури

1. Hosseini N, Shor J, Szabo G. Alcoholic Hepatitis: A Review. *Alcohol*. 2019 Jul 1;54(4):408-16. DOI: 10.1093/alcal/agz036.
2. Scheiner B, Stättermayer AF, Schwabl P, Bucsics T, Paternostro R, Bauer D, et al. Impact of HSD17B13 rs72613567 genotype on hepatic decompensation and mortality in patients with portal hypertension. *Liver Int*. 2020;40(2):393-404. DOI: 10.1111/liv.14304.
3. Присяжнюк ВП. Роль поліморфізму гена ендотеліальної синтази монооксиду нітрогену в розвитку захворювань серцево-судинної системи та печінки. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2013;12(2):223-27.
4. Mookerjee RP, Wiesenthal A, Icking A, Hodges SJ, Davies NA, Schilling K, et al. Increased gene and protein expression of the novel eNOS regulatory protein NOSTRIN and a variant in alcoholic hepatitis. *Gastroenterology*. 2006;132(7):2533-41. DOI: 10.1053/j.gastro.2006.12.035.
5. Cheng YQ, Lin JS, Wang WQ, Xiong P, Jiang XD. A study of the association of iNOS and eNOS gene polymorphism with portal hypertension in liver cirrhosis. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi*. 2005;13(5):366-9.
6. Boychuk T, Prysyzhnyuk V, Voloshyn O, Sydoruk L, Buluk R. Association of biochemical, cytokine and echocardiographic markers of cardiovascular injuries with T894G polymorphism of endothelial nitric oxide synthase gene in patients with nonviral liver cirrhosis. *Immunogastroenterology*. 2013;2(1):68-75.
7. Cozma A, Fodor A, Orasan OH, Vulturar R, Samplelean D, Negrean V, et al. Pharmacogenetic Implications of eNOS Polymorphisms (Glu298Asp, T786C, 4b/4a) in Cardiovascular Drug Therapy. *In Vivo*. 2019;33(4):1051-58. DOI: 10.21873/invivo.11573.
8. Shankarishan P, Borah PK, Ahmed G, Mahanta J. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and the risk of hypertension in an Indian population. *Biomed Res Int*. 2014;2014:793040. DOI: 10.1155/2014/793040.
9. Hashimoto M, Miyai N, Hattori S, Iwahara A, Utsumi M, Arita M, et al. Age and gender differences in the influences of eNOS T-786C polymorphism on arteriosclerotic parameters in general population in Japan. *Environ Health Prev Med*. 2016;21(4):274-82. DOI: 10.1007/s12199-016-0527-1.
10. Gamil S, Erdmann J, Abdalrahman IB, Mohamed AO. Association of NOS3 gene polymorphisms with essential hypertension in Sudanese patients: a case control study. *BMC Med Genet*. 2017;18(1):128. DOI: 10.1186/s12881-017-0491-7.
11. Xie X, Shi X, Xun X, Rao L. Endothelial nitric oxide synthase gene single nucleotide polymorphisms and the risk of hypertension: A meta-analysis involving 63,258 subjects. *Clin Exp Hypertens*. 2017;39(2):175-82. DOI: 10.1080/10641963.2016.1235177.
12. Seckin Y, Yigit A, Yesilada E, Gulbay G, Cagin YF, Gozukara H, et al. Association of eNOS Gene Polymorphisms G894T and T-786C with Risk of Hepatorenal Syndrome. *Gastroenterol Res Pract*. 2016;2016:2579626. DOI: 10.1155/2016/2579626.
13. Yildirim O, Yigit A, Seckin Y, Yesilada E, Gulbay G, Cagin YF, et al. The role of the eNOS G894T and T-786C gene polymorphism in the development of ascites in cirrhosis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2016;20(22):4725-30.
14. Yuan GJ, Zhou XR, Gong ZJ, Zhang P, Sun XM, Zheng SH. Expression and activity of inducible nitric oxide synthase and endothelial nitric oxide synthase correlate with ethanol-induced liver injury. *World J Gastroenterol*. 2006;12(15):2375-81. DOI: 10.3748/wjg.v12.i15.2375.
15. Тугушев АС, Кремзер АА, Избицкий ВВ, Нечепуренко ИГ, Панченко ЛВ. Оценка системы гемостаза при циррозе печени. *Запорожский медицинский журнал*. 2011;13(3):74-5.



## Оригінальні дослідження

16. Минов АФ, Дядзько АМ, Руммо ОО. Нарушения гемостаза при заболеваниях печени. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2010;12(2):82-91.

## References

1. Hosseini N, Shor J, Szabo G. Alcoholic Hepatitis: A Review. Alcohol Alcohol. 2019 Jul 1;54(4):408-16. DOI: 10.1093/alc/alz036.
2. Scheiner B, Stättermayer AF, Schwabl P, Bucsics T, Paternostro R, Bauer D, et al. Impact of HSD17B13 rs72613567 genotype on hepatic decompensation and mortality in patients with portal hypertension. Liver Int. 2020;40(2):393-404. DOI: 10.1111/liv.14304.
3. Prisyazhniuk VP. Rol' polimorfizmu hena endotelial'noi syntazy monooksydu nitroheny v rozvytku zakhvoriuvan' sertsevo-sudynnoi systemy ta pechinky [The role of endothelial nitrogen monoxide synthase gene polymorphism in the development of cardiovascular and liver diseases]. Klinichna ta eksperymental'na patolohiia. 2013;12(2):223-27. (in Ukrainian).
4. Mookerjee RP, Wiesenthal A, Icking A, Hodges SJ, Davies NA, Schilling K, et al. Increased gene and protein expression of the novel eNOS regulatory protein NOSTRIN and a variant in alcoholic hepatitis. Gastroenterology. 2006;132(7):2533-41. DOI: 10.1053/j.gastro.2006.12.035.
5. Cheng YQ, Lin JS, Wang WQ, Xiong P, Jiang XD. A study of the association of iNOS and eNOS gene polymorphism with portal hypertension in liver cirrhosis. Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi. 2005;13(5):366-9.
6. Boychuk T, Prisyazhnyuk V, Voloshyn O, Sydorchuk L, Bulyk R, et al. Association of biochemical, cytokine and echocardiographic markers of cardiovascular injuries with T894G polymorphism of endothelial nitric oxide synthase gene in patients with nonviral liver cirrhosis. Immunogastroenterology. 2013;2(1):68-75.
7. Cozma A, Fodor A, Orasan OH, Vulturar R, Samplelean D, Negrean V, et al. Pharmacogenetic Implications of eNOS Polymorphisms (Glu298Asp, T786C, 4b/4a) in Cardiovascular Drug Therapy. In Vivo. 2019;33(4):1051-58. DOI: 10.21873/invivo.11573.
8. Shankarishan P, Borah PK, Ahmed G, Mahanta J. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and the risk of hypertension

in an Indian population. Biomed Res Int. 2014;2014:793040. DOI: 10.1155/2014/793040.

9. Hashimoto M, Miyai N, Hattori S, Iwahara A, Utsumi M, Arita M, et al. Age and gender differences in the influences of eNOS T-786C polymorphism on arteriosclerotic parameters in general population in Japan. Environ Health Prev Med. 2016;21(4):274-82. DOI: 10.1007/s12199-016-0527-1.
10. Gamil S, Erdmann J, Abdalrahman IB, Mohamed AO. Association of NOS3 gene polymorphisms with essential hypertension in Sudanese patients: a case control study. BMC Med Genet. 2017;18(1):128. DOI: 10.1186/s12881-017-0491-7.
11. Xie X, Shi X, Xun X, Rao L. Endothelial nitric oxide synthase gene single nucleotide polymorphisms and the risk of hypertension: A meta-analysis involving 63,258 subjects. Clin Exp Hypertens. 2017;39(2):175-82. DOI: 10.1080/10641963.2016.1235177.
12. Seckin Y, Yigit A, Yesilada E, Gulbay G, Cagin YF, Gozukara H, Bilgic Y, Yildirim O, Turkoz Y, Aksungur Z. Association of eNOS Gene Polymorphisms G894T and T-786C with Risk of Hepatorenal Syndrome. Gastroenterol Res Pract. 2016;2016:2579626. DOI: 10.1155/2016/2579626.
13. Yildirim O, Yigit A, Seckin Y, Yesilada E, Gulbay G, Cagin YF, et al. The role of the eNOS G894T and T-786C gene polymorphism in the development of ascites in cirrhosis. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2016;20(22):4725-30.
14. Yuan GJ, Zhou XR, Gong ZJ, Zhang P, Sun XM, Zheng SH. Expression and activity of inducible nitric oxide synthase and endothelial nitric oxide synthase correlate with ethanol-induced liver injury. World J Gastroenterol. 2006;12(15):2375-81. DOI: 10.3748/wjg.v12.i15.2375.
15. Tugushev AS, Kremzer AA, Izbitskiy VV, Nechepurenko IG, Panchenko LV. Otsenka sistemy gemostaza pri tsirroze pecheni [Assessment of the hemostatic system in cirrhosis]. Zaporozhskiy meditsinskiy zhurnal. 2011;13(3):74-5. (in Russian).
16. Minov AF, Dyadz'ko AM, Rummo OO. Narusheniya gemostaza pri zabolevaniyakh pecheni [Hemostasis disorders in liver diseases]. Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov. 2010;12(2):82-91. (in Russian).

## Відомості про авторів

Молодцов В.Є. – медичний директор Комунального некомерційного підприємства Миколаївської міської ради «Міська лікарня №1», м. Миколаїв, Україна.

## Сведения об авторах

Молодцов В.Е. - медицинский директор коммунального некоммерческого предприятия Николаевского городского совета «Городская больница №1», г. Николаев, Украина.

## Information about the author

Molodtsov V.E. - Medical Director of the Municipal Non-Profit Enterprise of Mykolaiv City Council «City Hospital No. 1», Mykolaiv, Ukraine.

Надійшла до редакції 25.05.2020  
Рецензент — проф. Волошин О.І.  
© В.Є. Молодцов, 2020