

УДК 616.379 – 008. 64: 616.1208.3-073.96

Хачерян М.К., Серебрякова О.В., Просяник В.И.,
Серкин Д.М., Емельянов А.С., Бакалова Ю.В.

**РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА NOS3 (C786T)
В РАЗВИТИИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ У БОЛЬНЫХ
САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1 ТИПА, ПРОЖИВАЮЩИХ
В ЗАБАЙКАЛЬСКОМ КРАЕ**

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Читинская государственная медицинская академия»
Министерства здравоохранения Российской Федерации*

Цель исследования. Изучить частоту распределения аллелей и генотипов полиморфизма синтазы оксида азота NOS3 (C786T) у больных сахарным диабетом 1 типа с наличием и отсутствием диабетической кардиомиопатии, проживающих в Забайкальском крае.

Материалы и методы. Исследовано 124 больных с сахарным диабетом 1 типа, находившихся на лечении в ГУЗ ККБ. Всем пациентам с СД 1 типа выполнялось ЭхоКГ по стандартной методике. По результатам ЭхоКГ нарушение диастолической дисфункции было выявлено у 65 больных СД 1 типа. Они составили группу пациентов с диабетической кардиомиопатией. Контрольную группу составили 30 практически здоровых лиц. Определение SNP генов осуществлялось методом ПЦР с использованием наборов для определения полиморфизмов в геноме человека (мутация-1 NOS3 (c786t)).

Результаты. В ходе проведенного генетического анализа среди пациентов с сахарным диабетом с развитием диабетической кардиомиопатии и без возникновения диабетической кардиомиопатии и здоровых резидентов обнаружено, что распределение частот аллелей и генотипов исследуемого полиморфизмов соответствуют закону Харди–Вайнберга ($p > 0,05$). Выявлено, что мажорная аллель С гена NOS3 (C786T) превалировала больше у здоровых лиц. В результате исследования обнаружено, что частота распределения минорной аллели Т у больных сахарным диабетом больше, чем у здоровых лиц. При этом у носителей гомозиготного генотипа Т/Т вероятность развития диабетической кардиомиопатии выше, чем у гетерозигот.

Заключение. Для ранней диагностики и профилактики развития диабетической кардиомиопатии у больных СД 1 типа можно использовать генетический анализ полиморфизма NOS3 (C786T). Гомозиготный вариант генотипа Т/Т гена синтазы оксида азота NOS3 (C786T) может увеличивать риск развития кардиомиопатии у больных сахарным диабетом 1 типа.

Ключевые слова: сахарный диабет 1 типа, диабетическая кардиомиопатия, оксид азота, полиморфизм NOS3 (C786).

Hacheryan M.K., Serebryakova O.V., Prosyaniuk V.I., Serkin D.M., Yemelyanov A. S., Bakalova Yu.V.

**THE ROLE OF NOS3 (C786T) GENETIC POLYMORPHISM IN THE DEVELOPMENT
OF DIABETIC CARDIOMYOPATHY IN PATIENTS WITH TYPE 1 DIABETES,
LIVING IN THE TRANSBAIKAL REGION**

Chita State Medical Academy, Chita, Russia.

Summary: To study the distribution of alleles and genotypes of nitric oxide synthesis polymorphism NOS3 (C786T) frequency in patients with type 1 diabetes mellitus with and without diabetic cardiomyopathy living in the Transbaikal Region.

Materials and methods: 124 patients with type 1 diabetes mellitus who were on treatment in the regional clinical hospital were investigated. All patients with type 1 diabetes underwent echocardiography according to standard procedures. According to the results, of echocardiography, the violation of diastolic dysfunction in 65 patients with type 1 diabetes mellitus. They constituted a group of patients with diabetic cardiomyopathy. The control group consisted of 30 healthy individuals. The determination of SNP genes was carried out by PCR using sets to determine polymorphisms in the human genome (mutation-1 NOS3 (c786t)).

Results: A genetic analysis among patients with diabetes mellitus with the development of diabetic cardiomyopathy and without the occurrence of diabetic cardiomyopathy and healthy residents revealed that the frequency distribution of alleles and genotypes of the studied polymorphisms conform to Hardy – Weinberg law ($p > 0.05$). It was revealed that the major allele C of the NOS3 gene (C786T) prevailed more in healthy individuals. The study found that the frequency of distribution of minor allele T in patients with diabetes mel-

litus is greater than in healthy people. Thus the carriers of the homozygous genotype T/T is the probability of developing diabetic cardiomyopathy is higher than that of heterozygote's.

Conclusion: *For the early diagnosis and prevention of the development of diabetic cardiomyopathy in patients with type 1 diabetes, you can use the genetic analysis of the polymorphism NOS3 (C786T). The homozygous variant of the T / T genotype of the NOS3 nitric oxide synthesis gene (C786T) may increase the risk of developing cardiomyopathy in the in patients with type 1 diabetes mellitus.*

Key words: *type 1 diabetes mellitus, diabetic cardiomyopathy, nitrogen oxide, polymorphism NOS3 (C786).*

Сахарный диабет является одним из самых распространенных заболеваний в мире. Согласно данным ЭНЦ, сахарным диабетом (СД) в Российской Федерации страдает более 4,3 миллиона человек [1]. По прогнозам экспертов к 2040 году число больных будет насчитывать более 642 миллиона человек [2]. Сахарный диабет ассоциируется со значительными социальными потерями, связанными со снижением трудоспособности, ранней инвалидизацией и смертностью вследствие большого распространения сердечно-сосудистых осложнений у данной категории больных. Одной из актуальных проблем является поражение сердца при сахарном диабете 1 типа с развитием диабетической кардиомиопатии. По мнению А.Г. Мазовецкого и соавт., термин «диабетическое сердце» (диабетическая кардиомиопатия) употребим для характеристики структурно-функционального состояния миокарда у больных сахарным диабетом без отчетливых признаков коронарного атеросклероза, и артериальной гипертензии с развитием диастолической дисфункции миокарда левого желудочка [3]. Патогенез развития диабетической кардиомиопатии сложный и многофакторный, и до конца не изученный. Можно выделить несколько аспектов патогенеза формирования диабетической кардиомиопатии: влияние хронической гипергликемии, иммунного воспаления, эндотелиальной дисфункции, нарушения окислительно-восстановительных процессов, автономной вегетативной нейропатии, а так же ряда генетических факторов [1,3,4,5]. Диабетическая кардиомиопатия характеризуется снижением толерантности к физическим нагрузкам, тахикардией покоя, ортостатической гипотензией, безболевым ишемией миокарда, увеличением интервала QT, провоцирующим жизнеопасные аритмии, дисфункцией левого желудочка, внезапной сердечной смертью [2, 3].

Оксид азота играет важную роль в регуляции сосудистого тонуса и эндотелиальной дисфункции, в том числе у больных сахарным диабетом [6, 7]. Как известно, образование оксида азота катализируют ферменты синтазы оксида азота (NO-синтазы). Данная группа ферментов впервые описана в 1989 г. Эндотелиальная синтаза оксида азота (eNOS) – одна из синтаз человека, кодируемая геном NOS3 на 7-й хромосоме [6,7]. Полиморфизм (C786T) (*rs2070744*) гена NOS3 обуславливает недостатки наработки фермента, что является причиной снижения синтеза и высвобождения NO. В настоящее время существует большое количество исследований взаимосвязи полиморфизма гена эндотелиальной синтазы азота и различных заболеваний, в частности при сахарном диабете и сердечно-сосудистых заболеваний [6, 7, 8]. Так, выявлено, что аллель C 786 T>C встречалась гораздо чаще у больных нефропатией на фоне СД 2 типа и ассоциирована с риском развития нефропатии у больных СД 2 типа [9.]. По данным некоторых работ выявлено, что наличие C аллели NOS3 (C786T) может быть защитным фактором от пролиферативной диабетической ретинопатии у больных СД 2 типа [10]. Также установлено, что у пациентов с ИБС NOS3 (C-786 T) с генотипом C/C встречался чаще [13].

Учитывая вышеизложенное, вызывает большой интерес изучения возможного участия полиморфизма гена эндотелиальной синтазы азота NOS3 (C786 T) при формировании поражения миокарда у больных сахарным диабетом 1 типа.

Цель исследования: изучить частоту встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма синтазы оксида азота NOS3 (C786T) у больных сахарным диабетом 1 типа.

Материалы и методы. В данной работе представлены результаты обследования 124 больных сахарным диабетом 1 типа (СД 1 типа), в возрасте 32 [26,5; 40] года, находившихся на лечении в ГУЗ «Краевая клиническая больница» г. Читы, а также на амбулаторном лечении в поликлинических подразделениях ГУЗ КМЦ г. Читы. Диагноз СД 1 типа устанавли-

вался на основании общепринятых методов: данных анамнеза заболевания, клинического обследования, исследования гликемического профиля, определения уровня гликированного гемоглобина [1]. Уровень гликированного гемоглобина (HbA1c) у исследованной группы пациентов составил 9,0 [8,1; 10]%. Критериями включения в исследование служили: больные с диагнозом сахарного диабета 1 типа, с возрастом от 16 до 40 лет, со стажем заболевания более 3-х лет. Критериями исключения из исследования: сахарный диабет 2 типа; панкреатогенный сахарный диабет; наличие острых диабетических осложнений в течении 2-х месяцев до исследования; период обострения хронических заболеваний; острые соматические заболевания; наличие диабетических макрососудистых осложнений; наличие пролиферативной или терминальной диабетической ангиоретинопатии; снижение скорости клубочковой фильтрации 45л/мин/1,73 м² и менее; врожденные и приобретенные пороками сердца; нарушения ритма сердца в анамнезе; сопутствующий диагноз ИБС; миокардит в анамнезе; полинейропатия недиабетического генеза; прием препаратов, влияющих на сердечный ритм; алкоголизм и хроническая алкогольная интоксикация; период беременности и лактации; онкологическая патология; сопутствующие другие эндокринные заболевания: нарушение функции щитовидной железы, надпочечников, паращитовидных желез; заболевания соединительной ткани; нарушения функции органов дыхания ДН II-III; заболевания крови; заболевания, сопровождающиеся легочной гипертензией; заболевания суставов НФС II-III. В качестве контрольной группы обследовано 30 практически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту живущих в Забайкальском крае. В работе с обследуемыми лицами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki) (1964, 2013 – поправки) и Правилами клинической практики в Российской Федерации, утвержденными Приказом Минздрава РФ (от 19.06.2003 г., № 266).

Для диагностики автономной (вегетативной) диабетической кардиоваскулярной нейропатии использовались обязательные тесты, согласно клиническим рекомендациям «Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом». Проводились тесты: ортостатическая проба (тест Шелонга – снижение систолического АД ≥ 30 мм ртст при перемене положения тела с горизонтального на вертикальное.); изменение частоты сердечных сокращений при медленном глубоком дыхании (6 в минуту) - разница между минимальной и максимальной ЧСС в 10 ударов и менее (норма >15); проба Вальсальвы – отсутствие увеличения ЧСС при натуживании более чем на 10 уд/мин.; дополнительные: холтеровское мониторирование ЭКГ – разница между макс и мин ЧСС в течение суток ≤ 14 уд/мин.; ЭКГ в пробе Вальсальвы – отношение макс. RR к мин. RR $\leq 1,2$. Диагноз автономной диабетической кардиоваскулярной нейропатии выставлялся при наличии 3 положительных проб. У 65 обследованных нами больных с СД 1 типа установлена автономная (вегетативная) диабетическая кардиоваскулярная нейропатия.

Всем пациентам с СД 1 типа выполнялось стандартное эхокардиографическое исследование. Для оценки диастолической дисфункции измерялись скоростные и временные показатели: максимальная скорость кровотока раннего диастолического наполнения (E), максимальная скорость кровотока во время предсердной систолы (A), время замедления раннего диастолического наполнения левого желудочка (DT), время изоволюметрического расслабления (IVRT) и соотношение E/A. Диастолическую дисфункцию устанавливали при увеличении IVRT более 160 мс, увеличении DT более 220 мс, уменьшении соотношения E/A < 1 . Для дифференциальной диагностики псевдонормализации трансмитрального потока и нормальной диастолической функции проводили пробу Вальсальвы. Стадия псевдонормализации устанавливалась при значениях IVRT <100 мс, DT <220 мс, соотношения E/A >1 . Пробу считали положительной при уменьшении соотношения E/A более чем на 40% и восстановлением E/A < 1 . У 12 пациентов, что составило 35,3% от общего количества больных с ДДЛЖ, данная проба была положительной. Стадия рестрикции (IVRT <70 мс, DT <160 мс, соотношение E/A >2) [4, 5]. По результатам стандартной ЭхоКГ и в сочетании с пробой Вальсальвы нарушение диастолической дисфункции левого желудочка выявлено у 65 больных СД 1 типа.

Определение SNP генов осуществлялось методом ПЦР с использованием наборов для определения полиморфизмов в геноме человека НПФ «Литех» (мутация-1 синтазы окиси азота 3) (Москва). Амплификацию фрагментов генов проводили в термоциклере (модель «Бис»-M111, ООО «Бис-Н», Новосибирск).

Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с использованием пакета программ Statistica 10. При сравнении частот аллелей и генотипов по качественному бинарному признаку применяли критерий χ^2 . Отношение шанса события в одной группе к шансу события в другой группе оценивали по величине отношения шансов (OR) с расчетом 95% доверительного интервала (CI95%).

Результаты и обсуждения. В ходе проведенного генетического анализа среди пациентов с сахарным диабетом с развитием диабетической кардиопатии и без возникновения диабетической кардиомиопатии и здоровых резидентов обнаружено, что распределение частот аллелей и генотипов исследуемых полиморфизмов соответствует закону Харди-Вайнберга ($p > 0,05$).

Выявлено, что в группах больных встречаемость полиморфных вариантов *NOS3* (*C786T*) существенно отличалась от контрольной группы. У пациентов без диабетической кардиопатии в 1,2 раза реже выявлялась минорная аллель *T* с частотой 0,655 по сравнению с больными с диабетической кардиомиопатией – 0,777 ($\chi^2=5,25$; $p=0,02$), и в 1,4 раз чаще, чем в группе здоровых лиц – 0,481 ($\chi^2=5,45$; $p=0,02$). Обнаружено, что мажорная аллель *C* значительно превалировала среди здоровых с частотой 0,519, тогда как среди пациентов с диабетической кардиомиопатией – 0,223 ($\chi^2=14,37$; $p=0,0002$), а у больных без диабетической кардиомиопатией – 0,345, что в 1,2 раза реже, чем в контроле ($\chi^2=5,45$; $p=0,02$).

В таблице 1 представлены результаты анализа распределения частот генотипов изучаемого полиморфизма *NOS3* (*C786T*) в исследуемых группах.

Таблица 1

Распространённость генотипов и аллелей полиморфизма *NOS3* (*C786T*) в исследуемых группах и контроле.

Генотипы (%) Аллели (P)	Контрольная группа	Больные с СД 1 типа и диабетической кардиопатией	Больные СД 1 типа без диабетической кардиопатии	χ^2 (p ¹)	χ^2 (p ²)	χ^2 (p ³)
CC	26,9%	7,1%	8,9%	12,57 p = 0,002	7,27 p = 0,03	7,91 p = 0,02
CT	50,0%	30,4%	51,3%			
TT	23,1%	62,5%	39,8%			
C	0,519	0,223	0,345	14,37 p = 0,0002	5,45 p = 0,02	5,25 p = 0,02
T	0,481	0,777	0,655			

Примечание: p¹, p² – значимость различий по сравнению со здоровыми; p³ – значимость различий распределения частот генотипов и аллелей групп больных с диабетической кардиопатией и без диабетической кардиомиопатии у пациентов с сахарным диабетом 1 типа.

Установлено, что в группах пациентов с диабетической кардиомиопатией и без данного осложнения гетерозиготы *C/TNOS3* (*C786T*) встречались в 30,4% и 51,3% случаев, соответственно. При этом среди больных без диабетической кардиомиопатии в 1,3 раза чаще выявлялись гомозиготы *C/C*, и в 1,6 раза реже регистрировались гомозиготы *T/T* гена *NOS3* (*C786T*), чем в группе больных диабетической кардиомиопатией ($\chi^2=7,91$; $p=0,02$). Распределение генотипов среди здоровых резидентов оказалось следующим: *C/C* – 26,9%, *C/T* – 50,0%, *T/T* – 23,1%.

Исходя из полученных данных о распределении частот, шанс развития сахарного диабета возрастает у лиц, несущих минорную аллель *T* (больные без диабетической кардиомиопатии – OR=3,76 [CI95%: 1,86-7,59] ($p=0,0002$); больные диабетической кардиомиопатией – OR=2,05 [CI95%: 1,11-3,77] ($p=0,02$)).

При этом вероятность развития диабетической кардиомиопатии у больных сахарным диабетом в 2,5 раза выше у резидентов, имеющих гомозиготный вариант T/T (OR=2,52 [CI95%: 1,30-4,87]) ($\chi^2=7,91$, $p=0,02$).

По данным различных исследований известно, что эндотелиальная дисфункция имеет большое значение в развитии и прогрессировании сосудистых осложнений при сахарном диабете. Оксид азота играет важную роль в регуляции сосудистого тонуса и является одним из маркеров эндотелиальной дисфункции. Ген NOS3, расположенный на 7 хромосоме в области q36.1 [10], контролирует образование оксида азота. Мутация в кодоне 786 гена NOS3 приводит к замене аминокислоты тимина на цитозин, что в дальнейшем приводит к снижению синтеза NO [7].

Имеются данные исследований, в которых выявлены носители генотипа C/C 786 NOS3 с более выраженной предрасположенностью к спазму коронарных сосудов, имеющие значение в развитии сердечно-сосудистых заболеваний [7]. В других научных работах изучены случаи ассоциации генотипа C/C с развитием атеросклероза коронарных сосудов и повышением риска развития ишемической болезни сердца у данной категории лиц, в сравнении с носителями гомозигот T/T гена NOS3 (C786T) [13]. Кроме того, в единичных работах изучался полиморфный маркер T(786)C гена NOS3 и выявлена его роль в развитии диабетической нефропатии при СД типа 1. Было показано, что риск развития диабетической нефропатии в этом случае был существенно выше у носителей генотипа CC, по сравнению с носителями генотипов T/C и T/T гена NOS3 (C786T) [7,8]. По результатам нашего исследования выявлено, что у пациентов с СД 1 типа имеющих гомозиготный вариант T/T NOS3 вероятность развития диабетической кардиомиопатии в 2,5 раза выше чем у резидентов с другими аллелями NOS3.

Таким образом, пациенты с СД 1 типа с генотипом T/T NOS3 больше подвержены развитию диастолической дисфункции на фоне хронической гипергликемии.

Выводы.

- 1) Аллель T гена NOS3 (C786T) может предрасполагать к развитию сахарного диабета.
- 2) Гомозиготный вариант T/T гена NOS3 (C786T) увеличивает риск развития диабетической кардиомиопатии у больных с сахарным диабетом 1 типа.
- 3) Генетический анализ полиморфизма NOS3 (C786T) с определением генотипов может дать возможность ранней диагностики и последующей профилактики развития диабетической кардиомиопатии у больных сахарным диабетом 1 типа.

Литература:

1. Дедов И.И., Мельниченко Г.А. Эндокринология. Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2017; 1084 с.
2. Дедов И.И., Шестакова М.В., Галстян Г.Р. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом. Под редакцией И.И. Дедова, М.В. Шестаковой (7-й выпуск). Сахарный диабет. 2015. 18 (1). (Спецвыпуск). 112 с.
3. Верткин А.Л., Ткачева О.Н. Диабетическая автономная нейропатия: руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009; 176 с.
4. Maisch В., Alter Р., Pankuweit S, В. Diabetic cardiomyopathy-factorfiction? Herz. 2011. 36 (2). 102-115.
5. Grandi А.М., Piantanida E., Franzetti I., Bernasconi M., Maresca A., Marnini P. Effect of glycemie control on the left ventricular diastolic function in type 1 diabetes mellitus. AmJCardiol. 2006. 97. 17-76.
6. Сорокина Ю.А., Ловцова Л.В. Полиморфизм гена эндотелиальной синтазы оксида азота и сахарный диабет 2 типа. Архив внутренней медицины. 2014. 6. 34-37.
7. Спицина Е.В. Исследование ассоциации ряда генов-кандидатов с диабетической полинейропатией при сахарном диабете типа 1. Автореферат. Москва.2013. 26с.
8. Строков, И.А., Никитин, А.Г., Спицина, Е.В., Светлова, Г.Н., Кураева, Т.Л., Якунина Н.Ю., Носиков, В.В. Генетическая предрасположенность к диабетической полинейропа-

тии при сахарном диабете типа 1. Материалы V Всероссийского конгресса эндокринологов "Высокие медицинские технологии в эндокринологии". Москва. 50.

9. Shoukry A. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and the risk of diabetic nephropathy in type 2 diabetes mellitus. *Genet. Test Mol. Biomarkers*. 2012. 16 (6). 574-79.
10. Zhao S. Nitric oxide synthase 3 (NOS3) 4b/a, T-786C and G894T polymorphisms in association with diabetic retinopathy susceptibility: a meta-analysis. *Ophthalmic Genet*. 2012. 33 (4). 200-207.
11. Fox C.S. Sullivan L., D'Agostino R. B., Sr. Wilson P.W. The significant effect of diabetes duration on coronary heart disease mortality: the Framingham Heart Study. *Diabetes Care*. 2004. 27. 704-708.
12. Monisha B., Vats P. Reactive metabolites and antioxidant gene polymorphisms in type 2 diabetes mellitus. *Indian Journal of Human Genetics*. 2014. 20 (1). 10-19.
13. Куба А.А., Никонова Ю.М., Феликсова О.М., Хромова А.В., Бебякова Н.А. Ассоциация генетического полиморфизма гена эндотелиальной синтазы оксида азота с сердечно-сосудистой патологией. *Современные проблемы науки и образования*. 2015. 3.

References:

1. Dedov I.I., Melnichenko G.A. *Endocrinology. National leaders*. M.: GEOTAR-media. 2017; 1084 pages of Dedov. I.I., Mel'nichenko G.A. *Endocrinology. National leadership*. Moscow: GEOTAR-Media. 2017. 1081. in Russian.
2. Dedov I.I., Shestakova M.V., Galstyan G. R., etc. Algorithms of specialized medical care by sick diabetes. Under I.I. Dedov's edition, M.V. Shestakova (the 7th release). *Diabetes*. 2015. 18 (1). (Special issue). 112. in Russian.
3. Vertkin A.L., Tkachyov O.N. *Diabetic autonomous neuropathy: the management for doctors*. M.: GEOTAR-media, 2009; 176 in Russian.
4. Maisch B., Alter P., Pankuweit S, B. Diabetic cardiomyopathy-factorfiction? *Herz*. 2011. 36 (2). 102-115.
5. Grandi A.M., Piantanida E., Franzetti I., Bernasconi M., Maresca A., Marnini P. Effect of glycaemic control on the left ventricular diastolic function in type 1 diabetes mellitus. *AmJCardiol*. 2006. 97. 17-76.
6. Sorokina Yu.A., L.V. Lovtsova Polymorphism Gena Endotelialna of a sintaza of nitrogen oxide and diabetes 2 types (Literary Review). *Archive of internal medicine*. 2014. 6. 34-37. in Russian.
7. Spitsina E.V. A research of association of a number of candidate genes with Diabetic polyneuropathy at diabetes of type 1the. *Abstract*. Moscow. 2013. 26 in Russian.
8. Strokov I.A., Nikitin A.G., Spitsina E.V., Svetlova G.N., Kurayeva T.L., Yakunina N Yu., Nosikov V.V. Genetic predisposition to diabetic polyneuropathy at diabetes of type 1. *Materials of the V All-Russian congress of endocrinologists "High medical technologies in endocrinology"* Moscow. 50. in Russian.
9. Shoukry A. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and the risk of diabetic nephropathy in type 2 diabetes mellitus. *Genet. Test Mol. Biomarkers*. 2012. 16 (6). 574-579.
10. Zhao S. Nitric oxide synthase 3 (NOS3) 4b/a, T-786C and G894T polymorphisms in association with diabetic retinopathy susceptibility: a meta-analysis. *Ophthalmic Genet*. 2012. 33 (4). 200-207.
11. Fox C.S., Sullivan L., D'Agostino R.B., Sr. Wilson P.W. The significant effect of diabetes duration on coronary heart disease mortality: the Framingham Heart Study. *Diabetes Care*. 2004. 27. 704-8
12. Monisha B., Vats P. Reactive metabolites and antioxidant gene polymorphisms in type 2 diabetes mellitus. *Indian Journal of Human Genetics*. 2014. 20 (1). 10-19.
13. Kuba A. A., Niconova Y.M., Feliksova O.M., Khromova A.V., Bebyakova N.A. Polymorphism gena endothelial of a sintaza of nitrogen oxide and heart disease/ *Modern problems of science and education*. 2015. 3. in Russian.