

**ASSOCIATIONS BETWEEN ANGIOTENSINOGEN AND  
ENDOTHELIAL NITRIC OXIDE SYNTHASE GENE  
POLYMORPHISMS AND CORONARY ARTERY DISEASE IN  
TYPE 2 DIABETIC PATIENTS**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (BIOCHEMISTRY)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY  
2008**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

Copyright by Mahidol University

ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนแองจิโอเทนซิโนเจนและเอ็นโดทีเลียลไนตริกออกไซด์ซินเทสต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2

(ASSOCIATIONS BETWEEN ANGIOTENSINOGEN AND ENDOTHELIAL NITRIC OXIDE SYNTHASE GENE POLYMORPHISMS AND CORONARY ARTERY DISEASE IN TYPE 2 DIABETIC PATIENTS)

เลขากร จันทวี 4636612 SIBC/M

วท.ม.(ชีวเคมี)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: อธิป ลิขิตลิลิต, M.Sc. (Biochemistry), ชัชชัย พิรพัฒน์ดิษฐ์, พ.บ., อ.ว. (อายุรศาสตร์โรคต่อมไร้ท่อ)

#### บทคัดย่อ

โรคหลอดเลือดหัวใจเป็นโรคแทรกซ้อนที่พบได้บ่อยและเป็นสาเหตุของการตายมากที่สุดในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 จากการศึกษาพบว่าระบบเรนินแองจิโอเทนซิน (RAS) และไนตริกออกไซด์ (NO) มีความสำคัญต่อการควบคุมการทำงานของหลอดเลือดและความดันโลหิต ดังนั้นยีนที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการทำงานของระบบเรนินแองจิโอเทนซินและไนตริกออกไซด์จะมีผลต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจในผู้ป่วยเบาหวาน การศึกษานี้เป็นการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมชนิดการเปลี่ยนเมแทไทโอนีนเป็นทรีโอนีนที่ตำแหน่ง 235 (M235T) และเปลี่ยนทรีโอนีนเป็นเมแทไทโอนีนที่ตำแหน่ง 174 (T174M) ของยีนแองจิโอเทนซิโนเจน (AGT) และความหลากหลายทางพันธุกรรมชนิดการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ไทมีนเป็นไซโตซีนที่ตำแหน่ง -786 (T-786C) และกวีนีนเป็นไทมีนที่ตำแหน่ง 894 (G894T) ของยีนเอ็นโดทีเลียลไนตริกออกไซด์ซินเทส (eNOS) ต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ซึ่งในการศึกษานี้ได้แบ่งผู้ถูกทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม คือกลุ่มควบคุม 105 คน, กลุ่มผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 135 คน, กลุ่มผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีโรคหลอดเลือดหัวใจแทรกซ้อน 100 คน การศึกษาลักษณะจีโนไทป์ทำโดยวิธีพีซีอาร์ และนำผลผลิตของพีซีอาร์มาวิเคราะห์ด้วยเอ็นซัยม์ตัดจำเพาะ ผลการทดลองพบว่าความถี่ของจีโนไทป์และความถี่ของอัลลีลของความหลากหลายของยีน AGT ทั้ง M235T และ T174M ไม่มีความแตกต่างทางสถิติในทั้ง 3 กลุ่ม และไม่มีผลต่อความดันโลหิตในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 สำหรับความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน eNOS T-786C พบว่าความถี่ของจีโนไทป์ TT สูงกว่าในผู้ป่วยเบาหวานที่มีโรคหัวใจแทรกซ้อนเมื่อเทียบกับกลุ่มผู้ป่วยเบาหวาน (OR = 2.165, 95%CI: 1.072-4.372). และยังพบว่าจีโนไทป์ TC รวมกับ CC มีค่าเฉลี่ยความดันโลหิตสูงกว่าจีโนไทป์ TT สำหรับความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน eNOS G894T พบว่าความถี่ของจีโนไทป์ TT สูงกว่าในผู้ป่วยเบาหวานที่มีโรคหัวใจแทรกซ้อนเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ( $p = 0.026$ ) และกลุ่มผู้ป่วยเบาหวาน ( $p = 0.013$ ) นอกจากนี้ยังพบว่าความถี่ของอัลลีล T ยังสัมพันธ์กับการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจในกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่มีโรคหัวใจแทรกซ้อน (OR = 1.867, 95%CI: 1.066-3.264) เมื่อศึกษาการทำงานร่วมกันของความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน eNOS T-786C และ G894T พบว่าจะเพิ่มความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 (adjusted OR = 21.253, 95%CI: 1.149-393.148) การศึกษานี้สรุปได้ว่าการทำงานร่วมกันของความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน eNOS T-786C และ G894T เป็นปัจจัยอิสระที่ทำให้เกิดโรคหลอดเลือดหัวใจในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 และพบว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมชนิด T-786C มีอิทธิพลต่อระดับความดันโลหิต ส่วนความหลากหลายทางพันธุกรรมชนิด M235T และ T174M ของยีน AGT และ G894T ของยีน eNOS ไม่สัมพันธ์กับความดันโลหิตสูงในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2

**ASSOCIATIONS BETWEEN ANGIOTENSINOGEN AND ENDOTHELIAL NITRIC OXIDE SYNTHASE GENE POLYMORPHISMS AND CORONARY ARTERY DISEASE IN TYPE 2 DIABETIC PATIENTS**

RUECHAKORN CHANTAWEE 4636612 SIBC/M

M.Sc. (BIOCHEMISTRY)

THESIS ADVISORS: ATIP LIKIDLILID, M.Sc. (BIOCHEMISTRY), THAVATCHAI PEERAPATDIT, M.D. (ENDOCRINOLOGY)

**ABSTRACT**

Coronary artery disease (CAD) is the most common complication and a major cause of mortality in type 2 diabetes mellitus (T2DM). The renin-angiotensin system (RAS) and nitric oxide (NO) production are both important regulators of vascular function and blood pressure. Gene encoding proteins involved in these pathways are candidates for a contribution to CAD in diabetic patients. In this study we have investigated variants of the angiotensinogen (AGT) gene, M235T and T174M polymorphisms and endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene, T-786C and G894T polymorphisms for association with CAD in type 2 diabetic patients. The study included 105 healthy control subjects, 135 type 2 diabetic patients and 100 type 2 diabetic patients with CAD. The AGT and eNOS gene polymorphisms were analyzed by polymerase chain reaction (PCR) and restriction fragment length polymorphism (RFLP). The genotype and allele frequencies of AGT M235T and T174M polymorphisms were not significantly different among the 3 groups. AGT M235T and T174M polymorphisms also showed no significant difference between hypertensive and normotensive in type 2 diabetic patients. For eNOS T-786C polymorphism, the -786TT genotype was more significantly frequent in diabetic patients with CAD than those without CAD with odds ratio 2.165 (95%CI: 1.072-4.372). The -786TC and CC combined genotype had higher mean blood pressure (BP) than -786TT genotype. For eNOS G894T polymorphism, the 894TT genotype was significantly higher in type 2 diabetic patients with CAD than in healthy controls ( $p = 0.026$ ) and type 2 diabetic patients without CAD ( $p = 0.013$ ). The 894T allele frequency was also higher in type 2 diabetic patients with CAD than in type 2 diabetic patients without CAD with odds ratio 1.867 (95%CI: 1.066-3.264). The interaction between the eNOS -786TT and 894GT combined with TT genotypes increased the risk of CAD with adjusted odds ratio 21.253 (95%CI: 1.149-393.148). In conclusion, the genetic risk factors of T-786C interacted with G894T polymorphisms in T2DM were independent risk of CAD in T2DM. The influence of T-786C polymorphism was associated with blood pressure levels. However, there were no correlation of AGT M235T, T174M and G894T polymorphisms with hypertension in T2DM.

**KEY WORDS:** ANGIOTENSINOGEN/ ENDOTHELIAL NITRIC OXIDE SYNTHASE/  
POLYMORPHISM/ GENETICS/ TYPE 2 DIABETES MELLITUS/  
CORONARY ARTERY DISEASE

156 pp.