

К. В. Савостьянов¹, М. В. Шестакова², Н. Ю. Якунина¹, О. К. Викулова², О. Е. Воронько¹, Л. А. Чугунова², М. Ш. Шамхалова², И. И. Дедов², В. В. Носиков¹

ПОЛИМОРФНЫЕ МАРКЕРЫ ГЕНОВ АРОВ И АРОЕ, А ТАКЖЕ ХРОМОСОМНАЯ ОБЛАСТЬ 3q21—q25 АССОЦИИРОВАНЫ С РАЗВИТИЕМ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕФРОПАТИИ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ ТИПА 1

¹Государственный научный центр РФ "ГосНИИгенетика", ²ГУ Эндокринологический научный центр РАМН, Москва

Ранее проведенные исследования ассоциации большой группы генов-кандидатов показали, что только полиморфные маркеры гена фермента, превращающего ангиотензин I (ACE), и гена NO-синтетазы клеток эндотелия сосудов (NOS3) ассоциированы с диабетической нефропатией (ДН) при сахарном диабете (СД) типа 1. Целью данной работы явилось изучение predisposition к ДН у пациентов с СД типа 1 с использованием полиморфных маркеров генов аполипопротеинов E (APOE) и B (APOB), кодирующих белки липидного обмена, а также полиморфных микросателлитов в хромосомной области 3q21—q25. Для анализа ассоциации с ДН обследовали 2 группы больных СД типа 1 с наличием (n = 54) и отсутствием (n = 65) ДН. Анализ частот аллелей и генотипов полиморфного маркера E2/E3/E4 гена АРОЕ показал, что носители аллеля E3 и генотипа E3/E3 имеют повышенный риск развития ДН (OR = 2,08 и 2,16 соответственно). В случае гена АРОВ было обнаружено, что носители аллеля I и генотипа II полиморфного маркера I/D имеют повышенный риск развития ДН (OR = 1,91 и 2,11 соответственно), в то время как носители аллеля D, напротив, имеют пониженный риск развития ДН (OR = 0,52). В хромосомной области 3q21—q25 нами была обнаружена ассоциация с ДН группы полиморфных микросателлитов. Наиболее сильная ассоциация обнаружена для маркера D3S1550. Значительно более высокий риск развития ДН имели носители аллеля 12 (OR = 4,85) и генотипа 12/14 (OR = 6,25). По всей видимости, в хромосомной области 3q21—q25 находится "главный" ген, иницирующий развитие ДН, тогда как другие гены, ассоциированные с ДН, в большей мере влияют на скорость ее прогрессии. Таким образом, среди русских жителей Москвы, больных СД типа 1, прогрессирование ДН ассоциировано главным образом с генами ACE, NOS3, АРОЕ и АРОВ, в то время как "главный" ген, определяющий первые этапы развития ДН при СД типа 1, по всей видимости, расположен в хромосомной области 3q21—q25.

Ключевые слова: сахарный диабет типа 1, диабетическая нефропатия, полиморфные маркеры, гены АРОЕ, АРОВ, полимеразная цепная реакция, человек.

Early studies of the association of a large group of gene candidates indicated that only the polymorphic markers of angiotensin-converting enzyme (ACE) I gene and endothelial vascular cell NO-synthetase (NOS3) gene were associated with diabetic nephropathy (DN) in type 1 diabetes mellitus. The purpose of this study was to examine DN predisposition in patients with type 1 DM, by using the polymorphic markers of the genes of apolipoproteins E (APOE) and B (APOB) which encode for lipid metabolic proteins, as well as polymorphic microsatellites in the chromosomal region 3q21-q25. Two groups of patients of patients with type 1 DM with (n = 54) and without (n = 65) DN were examined to analyze the gene association with DN. Analyzing the frequencies of the alleles and genotypes of the polymorphic marker E2/E3/E4 of APOR gene has indicated that the carriers of the allele E3 and the genotype E3/E3 have a higher risk for DN (OR = 2.08 and 2.16, respectively). In case of APOB gene, the carriers of allele I and genotype II of the polymorphic marker I/D have been ascertained to have a higher risk for DN (OR = 1.91 and 2.11, respectively) while those of allele D have, on the contrary, a lower risk for DN (OR = 0.52). The authors have revealed an association of a group of polymorphic microsatellites with DN in the chromosomal region 3q21-q25. There is the greatest association for the marker D3S1550. The carriers of allele 12 (OR = 4.85) and genotype 12/14 (OR = 6.25) have a much higher risk for DN. In all probability, in the chromosomal region 3q21-q25, there is a major gene that initiates the development of DN whereas other genes associated with DN affect the rate of its progression to a greater extent. Thus, among the Moscow Russian dwellers suffering from type 1 DM, the progression of DN is mainly associated with the genes of ACE, NOS3, APOE, and APOB while the major gene that determines the first stages of DN development in type 1 DM is likely to be located in the chromosomal region 3q21-q25.

Key words: type 1 diabetes mellitus, diabetic nephropathy, polymorphic markers, genes of APOE, APOB, polymerase chain reaction, man.

Диабетическая нефропатия (ДН) — микрососудистое осложнение сахарного диабета (СД), развитие которого значительно ухудшает течение и дальнейший прогноз заболевания. При ДН наблюдается поражение мелких кровеносных сосудов фильтрующего аппарата почек, приводящее в дальнейшем к увеличению количества белка, выделяющегося с мочой (протеинурии). Несмотря на сходную частоту развития ДН при СД типов 1 и 2, смертность от терминальной почечной недостаточности у больных СД типа 1 гораздо выше. Эффективность терапии данного осложнения в значительной мере зависит от своевременности его выявления, что придает особую актуальность и значимость проблеме изучения факторов риска ДН и диктует необходимость выработки информативных методов ее прогнозирования.

Ранее проведенные исследования ассоциации большой группы генов-кандидатов показали, что только полиморфные маркеры гена фермента, превращающего ангиотензин I (ACE), и гена NO-синтетазы клеток эндотелия сосудов (NOS3) ассоциированы с ДН среди русских больных СД типа 1 [1]. Ассоциацию генов, кодирующих липопротеины, ранее не изучали среди русских больных СД типа 1, хотя и считается, что одним из факторов риска ДН при СД типа 1 является повышенная концентрация липидов в плазме, поскольку определенные группы липопротеинов обладают сильным сродством к сосудистой стенке и могут способствовать ее повреждению. По некоторым данным, измененный липидный профиль на ранних стадиях может быть причиной развития нефропатии нормоальбуминурического типа у пациентов с СД типа 1. Поэтому

гены, кодирующие аполипопротеины В и Е, индивидуальные концентрации и свойства которых в значительной мере определяют липидный обмен у конкретного больного, представляют несомненный интерес для исследования в качестве генов-кандидатов, определяющих предрасположенность к развитию сосудистых осложнений при СД типа 1.

Аполипопротеин Е (апоЕ) играет центральную роль в метаболизме липидов. Его основная функция — участие в доставке холестерина тканям от мест его синтеза или всасывания в составе липопротеинов. Эта функция осуществляется благодаря высокому сродству апоЕ к рецепторам липопротеинов низкой (ЛПНП) и очень низкой (ЛПОНП) плотности, что способствует эндоцитозу ассоциированных липопротеиновых частиц [17].

Аполипопротеин Е существует в трех распространенных изоформах: Е2, Е3 и Е4. Все изоформы кодируются одним геном (АРОЕ). Различия между ними определяются двумя однонуклеотидными полиморфизмами (С/Т) в экзоне 4, которым соответствуют полиморфизмы аминокислотных остатков: цистеина (Cys) или аргинина (Arg) в положениях 112 и 158 аминокислотной последовательности апоЕ. Аллелю $\epsilon 2$ соответствует наличие 2 остатков Cys в обоих положениях (Cys112 и Cys158), аллелю $\epsilon 3$ — наличие Cys112 и Arg158 и аллелю $\epsilon 4$ — наличие 2 остатков Arg в обоих положениях (Arg112 и Arg158) [13]. Ряд исследований, проведенных на зарубежных популяциях, указывает на несомненную связь полиморфного маркера $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ гена АРОЕ с развитием ДН при СД типа как 1, так и 2 [4, 5, 10].

Аполипопротеин В (апоВ) — один из наиболее важных структурных апобелков частиц хиломикрон, ЛПОНП, липопротеинов промежуточной плотности, а также ЛПНП. Он играет важную роль в сборке и секреции частиц хиломикрон из тонкой кишки и ЛПОНП из печени [19], а также является лигандом для рецепторов, связывающих ЛПНП, таким образом, опосредуя поступление холестерина внутрь клеток [7]. Та центральная роль, которую апоВ играет в транспорте липидов, позволяет высказать предположение о том, что одной из основных причин, определяющих различия в уровне липидов у разных индивидов, может быть именно носительство определенных аллельных вариантов гена АРОВ. Одним из наиболее важных аллельных вариантов гена АРОВ, несомненно, является полиморфизм I/D в области, кодирующей сигнальный пептид. Данный полиморфизм представляет собой вставку/отсутствие вставки из 9 нуклеотидов, кодирующих аминокислоты 14—16 сигнального пептида (Leu—Ala—Leu) [6]. По всей видимости, сигнальный пептид играет важную роль как в эффективности внутриклеточного транспорта вновь синтезированного белка, так и в секреции и деградации апоВ.

Сравнение экспериментальных данных, полученных во многих исследованиях, в том числе и в наших работах, выявляет значительную противоречивость полученных результатов об ассоциации генов-кандидатов с ДН. Эта противоречивость и была одной из причин того, что в лаборатории Кролевского (США) провели анализ сцепления с ДН участков хромосом, содержащих гены *ACE*, *AGT* и

AT₂RI, с использованием семей с дискордантными сибсами из европейской популяции США. Оказалось, что области генома, в которых локализованы гены *ACE* и *AGT*, не сцеплены с ДН при СД типа 1, однако существует сильное сцепление с ДН участка размером 20 сМ из области 3q21—q25, содержащий ген *AT₂RI* [18].

Целью данной работы было изучение ассоциации полиморфных маркеров $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ гена АРОЕ, I/D гена АРОВ и группы полиморфных микросателлитов, расположенных в хромосомной области 3q21—q25, с развитием ДН у русских пациентов с СД типа 1, проживающих в Москве.

Материалы и методы

Группы больных русского или восточнославянского происхождения были отобраны из числа пациентов Эндокринологического научного центра РАМН (Москва). Группы формировали с использованием неперекрывающихся критериев отбора. В группу с ДН (ДН+; $n = 62$) вошли больные с продолжительностью СД типа 1 не более 15 лет и выраженной протеинурией (альбуминурия свыше 300 мг/сут). Контрольную группу (ДН-) образовали 68 пациентов с длительным (более 20 лет) диабетом и альбуминурией менее 200 мг/сут. Общая характеристика обследованных больных приведена в табл. 1.

Геномную ДНК из венозной крови обследуемых выделяли с помощью метода фенол-хлороформной экстракции [15]. Полиморфные участки амплифицировали с помощью ПЦР. Амплифицированные фрагменты ДНК разделяли с помощью электрофореза в 10% полиакриламидном геле. Гели окрашивали нитратом серебра [8].

Идентификацию аллелей полиморфного маркера $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ гена АРОЕ проводили после расщепления продукта амплификации (272 п. н.) рестриктазой *HinGI*. Аллелю $\epsilon 2$ на полиакриламидном геле соответствовали фрагменты размером 91 и 83 п. н., аллелю $\epsilon 3$ — 91, 48 и 35 п. н., аллелю $\epsilon 4$ — 72, 48, 35 и 19 п. н. В случае полиморфного маркера I/D гена АРОВ аллелю I (наличие вставки) соответствовал фрагмент размером 92 п. н., а аллелю D (отсутствие вставки) — фрагмент размером 83 п. н.

Сравнение распределения частот аллелей и генотипов исследованных полиморфных маркеров в группах проводили с использованием точного критерия Фишера. Статистически достоверными счи-

Таблица 1
Клиническая характеристика обследованных больных СД типа 1 с ДН+ и ДН- ($M \pm SD$)

Показатель	ДН+ ($n = 62$)	ДН- ($n = 68$)	p
Пол (м/ж)	29/33	26/42	$> 0,05$
Возраст, годы	$25,2 \pm 5,9$	$40,5 \pm 9,8$	$< 0,001$
Длительность СД, годы	$12,5 \pm 5,9$	$14,1 \pm 8,4$	$< 0,001$
Возраст дебюта СД, годы	$12,7 \pm 2,7$	$26,4 \pm 7,1$	$> 0,05$
Уровень Hb A _{1c} , %	$11,5 \pm 0,6$	$10,9 \pm 2,5$	$< 0,05$
Общий холестерин сыворотки, ммоль/л	$6,26 \pm 2,29$	$5,29 \pm 1,13$	$< 0,01$
Триглицериды сыворотки, ммоль/л	$2,26 \pm 1,40$	$1,39 \pm 0,54$	$< 0,001$
Альбуминурия, мг/сут	$2727,8 \pm 1085,6$	$18,1 \pm 6,9$	$< 0,001$

тали различия при $p < 0,05$. Для полиморфного маркера $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ гена *APOE* и полиморфных микросателлитов, расположенных в хромосомной области 3q21—q25, вводили поправку на множественность аллелей и генотипов (поправка Бонферрони). Относительный риск развития заболевания оценивали с помощью показателя соотношения шансов (OR). Значение OR и доверительного интервала (CI) вычисляли с помощью программы Calculator for confidence intervals of odds ratio (D. Huchon [14]).

Результаты и их обсуждение

Анализ распределения аллелей и генотипов полиморфного маркера $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ гена *APOE* (табл. 2) показал, что наиболее часто в обеих группах встречался аллель $\epsilon 3$ (0,815 и 0,693 в группах ДН+ и ДН- соответственно), а наиболее распространенным генотипом был $\epsilon 3/\epsilon 3$ (0,704 и 0,539 соответственно). Аллель $\epsilon 2$ встречался чаще, чем аллель $\epsilon 4$: в 2,3 раза в группе ДН+ и в 1,5 раза в контрольной группе. Генотипы $\epsilon 2/\epsilon 3$ и $\epsilon 3/\epsilon 4$ в группе больных с ДН наблюдались с одинаковой частотой (0,111), а генотипы $\epsilon 2/\epsilon 4$ и $\epsilon 4/\epsilon 4$ в данной группе не обнаружены. При сравнительном анализе распределения аллелей и генотипов полиморфного маркера $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ между двумя группами было обнаружено достоверное ($p = 0,026$ с поправкой на множественность аллелей) возрастание содержания аллеля $\epsilon 3$ в группе больных ДН+ (0,815 против 0,693 в группе ДН-), при этом доля аллеля $\epsilon 4$ уменьшилась в 2,2 раза (0,056 против 0,123), а доля аллеля $\epsilon 2$ — в 1,43 раза (0,129 против 0,184) по сравнению с группой больных без ДН. Однако эти различия оказались статистически недостоверными. В распределении генотипов наблюдалось возрастание доли генотипа $\epsilon 3/\epsilon 3$ в группе ДН+ (0,704 против 0,539 в группе ДН-) при уменьшении содержания всех остальных генотипов, кроме $\epsilon 2/\epsilon 3$ (см. табл. 2). Однако после введения поправки на множественность генотипов ста-

тистически достоверными оказались только различия в распределении генотипа $\epsilon 3/\epsilon 3$ ($p = 0,048$).

Полученные данные свидетельствуют об ассоциации полиморфного маркера $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ гена *APOE* с развитием ДН при СД типа 1 у русских пациентов Москвы. При этом носительство аллеля $\epsilon 3$ и генотипа $\epsilon 3/\epsilon 3$ является генетическим фактором повышенного риска развития ДН при СД типа 1 ($OR = 2,08$; $CI = 1,12-3,87$ и $OR = 2,16$; $CI = 1,01-4,63$ соответственно).

Результаты поиска ассоциации полиморфного маркера $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ гена *APOE* с развитием ДН в других популяциях носит противоречивый характер. В группах больных СД типа 1 из Германии, Франции, Дании и России (Санкт-Петербург) не обнаружено ассоциации данного полиморфного маркера с ДН [12, 20, 21, 23]. В то же время в группах больных СД типа 1 из Великобритании и США была обнаружена ассоциация аллеля $\epsilon 2$ с повышенным риском развития ДН [5, 10]. В работе финских авторов обнаружена ассоциация аллеля $\epsilon 4$ с повышенным риском ДН при СД типа 2, в то время как носительство аллеля $\epsilon 2$ связано с пониженным риском развития ДН [22]. Прямо противоположные результаты были получены в 3 работах японских авторов: среди японских больных СД типа 2 носители аллеля $\epsilon 2$ имеют повышенный риск [4, 11], в то время как носители аллеля $\epsilon 4$ имеют пониженный риск развития ДН [16].

Полученные нами данные о повышенном риске развития ДН у русских больных СД типа 1 — носителей аллеля $\epsilon 3$ и генотипа $\epsilon 3/\epsilon 3$ не находят аналогий с результатами, полученными во всех других исследованиях. Подобные расхождения в результатах исследований скорее всего связаны с тем, что полиморфный маркер $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ гена *APOE* не относится к функционально важным полиморфизмам. Однако обнаруженные в различных исследованиях, проведенных к тому же на разных популяциях, ассоциации данного полиморфного маркера гена *APOE* с развитием ДН при СД типа как 1, так и 2 указывают на то, что в некоторых популяциях данный маркер находится в неравновесии по сцеплению с другими маркерами, которые действительно определяют некие функционально важные различия в структурной организации гена *APOE*. Можно предположить, что это могут быть, например, еще не выявленные различия в уровне экспрессии и/или стабильности мРНК, которые могут определять уровень синтеза этого белка в организме.

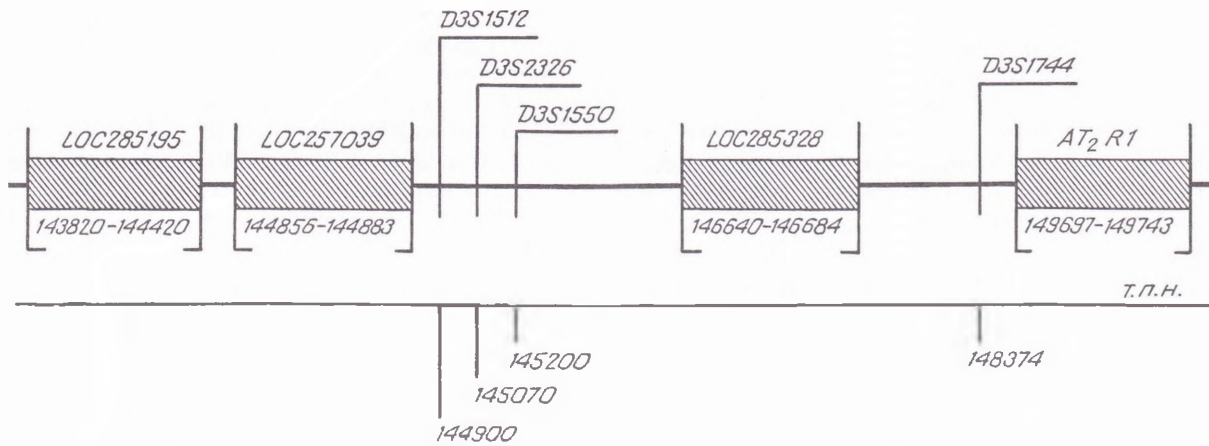
Анализ распределения аллелей и генотипов полиморфного маркера I/D гена *APOB* (см. табл. 2) показал, что в группе ДН+ самым распространенным вариантом был гомозиготный генотип I/I, тогда как в группе ДН- преобладал гетерозиготный генотип I/D. В группе ДН+ гомозиготный генотип II встречался в 1,54 раза чаще ($p = 0,034$), в то время как гетерозиготный генотип ID, напротив, встречался в 1,24 раза реже, чем у пациентов без ДН. В группе больных с ДН также наблюдалось достоверно более высокое ($p = 0,018$) содержание аллеля I (0,722 против 0,585 в группе ДН-).

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что полиморфный маркер I/D гена *APOB* ассоциирован с развитием ДН при СД типа

Таблица 2

Распределение аллелей и генотипов полиморфных маркеров $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ гена *APOE* и I/D гена *APOB* в группах больных СД типа 1 с ДН+ и ДН-

Аллели и генотипы	ДН+ (n = 62)	ДН- (n = 68)	p	OR	95% CI
<i>Ген APOE</i>					
Аллель $\epsilon 2$	0,129	0,184	$> 0,05$	—	—
Аллель $\epsilon 3$	0,815	0,693	0,026	2,08	1,12—3,87
Аллель $\epsilon 4$	0,056	0,123	$> 0,05$	—	—
Генотип $\epsilon 2/\epsilon 2$	0,074	0,077	$> 0,05$	—	—
Генотип $\epsilon 2/\epsilon 3$	0,111	0,169	$> 0,05$	—	—
Генотип $\epsilon 2/\epsilon 4$	0,000	0,046	$> 0,05$	—	—
Генотип $\epsilon 3/\epsilon 3$	0,704	0,539	0,048	2,16	1,01—4,63
Генотип $\epsilon 3/\epsilon 4$	0,111	0,138	$> 0,05$	—	—
Генотип $\epsilon 4/\epsilon 4$	0,000	0,031	$> 0,05$	—	—
<i>Ген APOB</i>					
Аллель I	0,722	0,585	0,018	1,91	1,10—3,29
Аллель D	0,278	0,415	0,018	0,52	0,31—0,91
Генотип II	0,537	0,354	0,034	2,11	1,01—4,43
Генотип ID	0,370	0,462	$> 0,05$	—	—
Генотип DD	0,093	0,184	$> 0,05$	—	—



Положение 4 полиморфных микросателлитов и координаты границ 4 генов в области q21—q25 хромосомы 3 по отношению к р-концу хромосомы 3.

1 у русских пациентов, проживающих в Москве. При этом носители аллеля I и генотипа I/I имеют повышенный риск развития ДН ($OR = 1,91$; $CI = 1,10-3,29$ и $OR = 2,11$; $CI = 1,01-4,43$ соответственно), в то время как носители аллеля D, напротив, имеют пониженный риск развития данного осложнения ($OR = 0,52$; $CI = 0,31-0,91$).

Известно, что сигнальный пептид играет важную роль во внутриклеточном транспорте вновь синтезированного белка, а также в секреции и деградации апоВ. Попытки обнаружить корреляцию между аллелями этого полиморфного маркера и такими показателями, как уровни триглицеридов и холестерина, а также ЛПОНП, успехом не увенчались, так как сравнение результатов, полученных в группах пациентов из различных популяций, показало их крайнюю противоречивость. Тем не менее многие данные свидетельствуют о том, что ген АРОВ вовлечен в развитие сердечно-сосудистых патологий, а полиморфный маркер I/D каким-то образом ассоциирован с изменениями липидного профиля и развитием атеросклероза в различных популяциях [9]. Ассоциацию гена АРОВ с ДН при СД типа 1 ранее не изучали и полученные нами результаты — первый пример достоверной ассоциации гена АРОВ с осложнениями при СД.

Обобщая полученные данные, можно сделать вывод о несомненной вовлеченности ряда генов липидного обмена в развитие ДН при СД типа 1 у русских пациентов Москвы. Однако следует отметить, что достаточно важную роль в патогенезе ранних стадий ДН играют также гены, продукты которых связаны с регуляцией сосудистого тонуса в микроциркуляторном русле, такие как ACE и NOS3 [1, 2].

Следует отметить, что ассоциация всех этих 4 генов с ДН является достоверной, но относительно слабой и, по всей видимости, связана скорее с прогрессией, чем с первыми этапами развития ДН. Общий анализ всего массива данных показывает низкую достоверность и значительную противоречивость результатов, полученных при изучении ассоциации с ДН полиморфных маркеров генов-кандидатов в различных популяциях. В связи с этим, используя те же группы больных СД типа 1 и без ДН,

мы изучили ассоциацию с ДН хромосомной области 3q21—q25, сцепление которой с СД в дискордантных семьях из европейской популяции США было обнаружено ранее [18].

Взаимное расположение 4 микросателлитных маркеров, расположенных в области 3q21—q25 рядом с геном AT₂R1, показано на рисунке. В случае маркера D3S1744 ассоциации не обнаружено [3]. Только аллель 12 маркера D3S1512 [3] был ассоциирован с ДН ($OR = 3,39$; $CI = 1,71-6,72$; $p = 0,0054$). Показано, что у носителей аллеля 26 маркера D3S2326 понижен риск ДН ($OR = 0,41$; $CI = 0,21-0,80$; $p = 0,005$), тогда как у носителей аллеля 27 — повышен ($OR = 2,96$; $CI = 1,53-5,75$; $p = 0,048$) [3]. Наиболее сильная ассоциация с ДН обнаружена у маркера D3S1550. Значительно более высокий риск развития ДН имели носители аллеля 12 ($OR = 4,85$; $CI = 1,73-13,58$; $p = 0,01$) и генотипа 12/14 ($OR = 6,25$; $CI = 1,93-20,25$; $p = 0,024$; табл. 3).

В этой области хромосомы 3 недалеко от маркера D3S1550 найдено 3 гена. Ген LOC285195 гомо-

Таблица 3

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера D3S1550, расположенного в области q21—q25 хромосомы 3 у больных СД типа 1 с ДН+ и ДН-

Аллели и генотипы*	ДН+ (n = 62)	ДН- (n = 68)	p	OR	95% CI
12	0,162	0,031	0,01048	4,85	1,73—13,58
14	0,638	0,687	> 0,05	—	—
15	0,138	0,240	> 0,05	—	—
16	0,062	0,042	> 0,05	—	—
12/14	0,275	0,042	0,02410	6,25	1,93—20,25
12/15	0	0,021	> 0,05	—	—
12/16	0,050	0	> 0,05	—	—
14/14	0,350	0,438	> 0,05	—	—
14/15	0,225	0,396	> 0,05	—	—
14/16	0,075	0,063	> 0,05	—	—
15/15	0,025	0,021	> 0,05	—	—
15/16	0	0,021	> 0,05	—	—

Примечание. * — обозначение аллелей и генотипов соответствует числу повторяющихся единиц в аллелях полиморфного микросателлита D3S1550.

логичен гену Na^+/H^+ -АТФазы 7, которая осуществляет обмен ионов натрия и водорода. Ген LOC257039 гомологичен гену S17, кодирующему рибосомный белок субъединицы 40S рибосом, ген LOC285328 гомологичен гену GM2, кодирующему один из компонентов комплекса, расщепляющего ганглиозиды. Все эти гены, в первую очередь ген Na^+/H^+ -АТФазы 7, могут рассматриваться в качестве генов-кандидатов, определяющих развитие ДН.

Среди ряда моделей, объясняющих роль и взаимодействие генетических и метаболических факторов в развитии сосудистых осложнений, в частности ДН, на наш взгляд, наиболее правомочен "смешанный" вариант, предполагающий, что некоторые гены, в том числе, возможно, один "главный", могут интерферировать с метаболическими факторами риска и инициировать ДН, тогда как другие гены больше влияют на скорость ее развития. Опираясь на наши данные [3] и результаты геномного поиска, проведенного в США [18], можно предположить, что в области q21—q25 хромосомы 3 находится именно "главный" ген. Следует отметить, что положительные результаты, полученные разными методами на 2 неродственных популяциях, значительно увеличивают вероятность того, что этот "главный" ген находится именно в данном районе хромосомы 3.

Выводы

1. Полученные в настоящей работе данные показывают, что гены АРОЕ и АРОВ, продукты которых играют центральную роль в метаболизме липидов, вовлечены в патогенез ДН у русских, больных СД типа 1, проживающих в Москве.

2. Носители аллеля E3 и генотипа E3/E3 полиморфного маркера E2/E3/E4 гена АРОЕ имеют повышенный риск развития ДН. Носители аллеля I и генотипа II полиморфного маркера I/D гена АРОВ имеют повышенный риск развития ДН, в то время как носители аллеля D, напротив, имеют пониженный риск развития ДН.

3. В хромосомной области 3q21—q25 обнаружена ассоциация с ДН группы полиморфных микросателлитов. Наиболее сильная ассоциация обнаружена для маркера D3S1550. Значительно более вы-

сокий риск развития ДН имели носители аллеля 12 (OR = 4,85) и генотипа 12/14 (OR = 6,25).

4. По всей видимости, в хромосомной области 3q21—q25 находится "главный" ген, инициирующий развитие ДН, тогда как другие гены, ассоциированные с ДН, в большей мере влияют на скорость ее прогрессии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горашко Н. М., Шестакова М. В., Чистяков Д. А. и др. // Сахарный диабет. — 2002. — № 1. — С. 38—42.
2. Носиков В. В. // Молекул. биол. — 2004. — Т. 38. — С. 150—164.
3. Савостьянов К. В., Чистяков Д. А., Шестакова М. В. и др. // Молекул. биол. — 2002. — Т. 36. — С. 1015—1020.
4. Araki S., Moczulski D. K., Hanna L. et al. // Diabetes. — 2000. — Vol. 49. — P. 2190—2195.
5. Araki S.-I., Koya D., Makiishi T. et al. // Diabetes Care. — 2003. — Vol. 26. — P. 2416—2420.
6. Boerwinkle E., Chan L. // Nucl. Acids Res. — 1989. — Vol. 17. — P. 4003.
7. Brown M. S., Goldstein J. L. // Science. — 1986. — Vol. 232. — P. 34—47.
8. Budowle B., Baechtel F. S. // Appl. Electrophor. — 1990. — Vol. 1. — P. 181—187.
9. Chiodini B. D., Barlera S., Franzosi M. G. et al. // Atherosclerosis. — 2003. — Vol. 167. — P. 355—366.
10. Chowdhury T. A., Dyer P. H., Kumar S. et al. // Diabetes. — 1998. — Vol. 47. — P. 278—280.
11. Eto M., Horita K., Morikawa A. et al. // Clin. Genet. — 1995. — Vol. 48. — P. 288—292.
12. Hadjadj S., Gallois J., Simard G. et al. // Nephrol. Dial. Transplant. — 2000. — Vol. 15. — P. 1971—1976.
13. Hixson J. E., Vernier D. T. // J. Lipid Res. — 1990. — Vol. 31. — P. 545—548.
14. Hutchon D. J. R. [http: Calculator for confidence intervals for odds ratio unmatched case control study](http://Calculator for confidence intervals for odds ratio unmatched case control study).
15. Johns M. B., Paulus-Thomas J. E. // Anal. Biochem. — 1989. — Vol. 180. — P. 276—278.
16. Kimura H., Suzuki J., Gejyo F. // Am. J. Kidney Dis. — 1998. — Vol. 31. — P. 666—673.
17. Miettinen T. A. // Ann. Med. — 1991. — Vol. 23. — P. 181—186.
18. Moczulski D. K., Rogus J. J., Antonellis A. et al. // Diabetes. — 1998. — Vol. 47. — P. 1164—1169.
19. Olofsson S.-O., Bjursell G., Bostrom K. et al. // Atherosclerosis. — 1987. — Vol. 68. — P. 1—17.
20. Scherbak N. S. // Med. Genet. — 2001. — Vol. 2. — P. 8.
21. Tarnow L., Stehouwer C. D., Emeis J. J. et al. // Nephrol. Dial. Transplant. — 2000. — Vol. 15. — P. 625—630.
22. Ukkola O., Kervinen K., Salvela P. I. et al. // Atherosclerosis. — 1993. — Vol. 101. — P. 9—15.
23. Werle E., Fiehn W., Hasslacher C. // Diabetes Care. — 1998. — Vol. 21. — P. 994—998.

Поступила 08.09.04

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2005

УДК 616.833-02:616.379-008.64]-092-085.356

М. И. Балаболкин, В. М. Кремская, Е. М. Клебанова

РОЛЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ПАТОГЕНЕЗЕ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИИ И ВОЗМОЖНОСТЬ ЕГО КОРРЕКЦИИ ПРЕПАРАТАМИ α -ЛИПОВОЙ КИСЛОТЫ

Институт диабета ЭНЦ РАМН, Москва, кафедра эндокринологии и диабетологии ФППО ММА им. И. М. Сеченова

Исследованиями последних лет установлена четкая корреляционная зависимость между гипергликемией и степенью выраженности окислительного стресса, наличие которого сопровождается ак-

тивированием процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), в том числе липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), ингибированием синтеза эндотелиального оксида азота, увеличением синте-