

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1998

УДК 616.379-008.64-06:616.13/.14]-079.3:575(048.8)

Я. Ю. Кондратьев, В. В. Носиков, И. И. Дедов

ПОЛИМОРФНЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ И СОСУДИСТЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ САХАРНОГО ДИАБЕТА

Эндокринологический научный центр (дир. — акад. РАМН И. И. Дедов) РАМН и Государственный научный центр РФ "ГосНИИгенетика" (дир. — член.корр. РАН В. Г. Дебабов), Москва

Сахарный диабет — клинически и генетически гетерогенное заболевание, характеризующееся абсолютной или относительной инсулиновой недостаточностью и (или) периферической резистентностью тканей к гормону. Каждое из этих нарушений по отдельности или в различных комбинациях снижает потребление глюкозы тканями и повышает концентрацию этого моносахарида в крови больного. Состояние гипергликемии является необходимым и с течением времени достаточным условием развития так называемых поздних осложнений сахарного диабета (преимущественно сосудистых — диабетических ангиопатий). Эти хронические осложнения диабета являются главной причиной высокой инвалидизации и смертности больных, представляя тем самым не только серьезную медико-социальную, но и экономическую проблему [60]. Эта проблема усугубляется еще и тем, что в последнее время отмечена тенденция к росту заболеваемости диабетом [42], ожидаемая распространенность которого к 2010 г. составит около 215 млн человек [59]. Кроме того, для наиболее распространенной формы заболевания — инсулиннезависимого (тип II) сахарного диабета (ИНСД) — характерны запаздывающая диагностика и недовыявление заболевания в общей популяции, приводящие к значительно заниженной оценке его распространенности [29, 30].

Развитие представлений о нарушении метаболизма глюкозы как о важнейшем этиологическом факторе (факторе риска) диабетических ангиопатий и опыт применения бесполезных при плохом контроле гликемии ангиопротекторов привели к изменению стратегии лечения и профилактики диабетических ангиопатий. На смену фармакологическому "штурму" пришла метаболическая "осада" — интенсивная инсулинотерапия, жесткий контроль гликемии, формирование у больных диабетом устойчивой мотивации самоконтроля. Все это позволило заметно снизить частоту и тяжесть диабетических осложнений, замедлить скорость прогрессирования многих из них [100]. Однако, несмотря на явные успехи в этом направлении, проблема диабетических ангиопатий по-прежнему остается острой и требует принципиально новых подходов к диагностике, лечению и профилактике. Одним из таких подходов может стать молекулярная и популяционная генетика сосудистых осложнений сахарного диабета, ори-

ентированная на оценку генетического риска (предрасположенность или устойчивость к патологии) и прогнозирование ее развития задолго до появления первых клинических признаков. Знание же причин и механизмов развития диабетических ангиопатий, оценка их генетического риска значительно расширят возможности их ранней диагностики и профилактики, а также выбора наиболее оптимального патогенетического (а не только симптоматического) лечения.

Этиологическая мультифакториальность ангиопатий

Как и основное заболевание, сосудистые осложнения сахарного диабета являются клинически гетерогенными и этиологически мультифакториальными. В их этиопатогенезе задействованы нарушения микроциркуляции, липидного обмена, свертывающей и фибринолитической систем крови, системы антиоксидантной защиты, ионного и кислотно-щелочного гомеостаза, обмена белковых компонентов сосудистой стенки и проницаемости сосудов. Общим же "корнем" всех диабетических микро- и макроангиопатий и самым ранним их проявлением является изменение работы клеток эндотелия сосудов — эндотелиальная дисфункция [99, 105].

Эндотелиальные клетки, выстилающие русло всех кровеносных сосудов тела, обеспечивают регуляцию сосудистого тонуса (изменение просвета сосудов за счет сокращения или расслабления клеток гладкой мускулатуры) и соответственно регуляцию артериального давления, перераспределение кровотока, снабжение тканей и органов кислородом и продуктами метаболизма в зависимости от их потребностей. Эндотелий активно участвует во многих локальных и системных метаболических процессах, в регуляции гемостаза, пролиферации и миграции клеток разных типов, в обеспечении целостности сосудистой стенки, ее избирательной проницаемости, в восстановлении поврежденных сосудов и неоваскуляризации тканей при ишемии. Эти функции эндотелия реализуются через различные механизмы, в первую очередь с помощью вырабатываемых самим эндотелием сосудосуживающих, релаксирующих и ростовых факторов, факторов свертывания крови и компонентов фибринолитической системы [9, 69],

что позволяет отнести эндотелий к паракринным органам. Изменения (обычно повышение) концентрации многих из этих факторов в крови больных сахарным диабетом принято считать маркерами повреждения эндотелия [51].

Нарушения метаболизма при сахарном диабете приводят не только к функциональным сдвигам в клетках эндотелия сосудов. Со временем они вызывают серьезные структурные изменения как в мелких, так и в крупных сосудах. В первом случае это утолщение базальной мембраны, нарушение ее избирательной проницаемости, пролиферация клеток гладкой мускулатуры сосудов, а во втором — также уменьшение просвета сосудов, но преимущественно за счет атеросклеротических изменений их стенки. В развитии структурно-функциональных аномалий, лежащих в основе диабетических ангиопатий и ассоциированных с ними патологий (нарушения свертывающей системы крови, артериальной гипертензии), участвует множество взаимодействующих между собой процессов. Все они в различной степени подвержены влиянию глюкозы.

Плохо контролируемая гликемия является главным, хотя и не единственным этиологическим фактором всех хронических осложнений диабета [27, 50]. Глюкоза химически не столь инертна, как это кажется на первый взгляд. В водном растворе (жидкая среда организма) она может существовать в двух формах — циклической и развернутой. Последняя представляет собой 2 переходящих друг в друга весьма реакционно-способных кетоенольных таутомера. В концентрациях, превышающих физиологические (> 5 мМ), глюкозный кетоенольный таутомер без участия ферментов вступает во многие химические реакции быстрее, чем при нормогликемии. Длительное и неконтролируемое при сахарном диабете воздействие глюкозы на различные структуры клеток, тканей и органов получило определение глюкозотоксичности [53].

Существуют несколько путей реализации феномена глюкозотоксичности. Важнейшими из них являются следующие: а) неферментативное гликозилирование (точнее — гликирование) белков и других содержащих свободные аминокислоты соединений [8], приводящее к их необратимой структурно-функциональной модификации; б) сопряженное с неферментативным гликированием аутоокисление (более известное как перекисное окисление) глюкозы, а также липидов и белков [34, 88, 114], сопровождающееся повышением уровня крайне реакционноспособных свободных радикалов. Кроме того, состояние гипергликемии приводит к тому, что отдельные звенья системы антиоксидантной защиты организма не справляются с возросшей нагрузкой [107, 110, 113]. Важная роль свободных радикалов в развитии диабетических ангиопатий и полинейропатии косвенно подтверждается положительным клиническим эффектом природных и синтетических антиоксидантов [101]. Такое обусловленное глюкозой (точнее, гипергликемией) нарушение баланса окислительно-восстановительных процессов и усиление неконтролируемых свободнорадикальных реакций иногда называют окислитель-

ным стрессом, особенно пагубным для сосудистого эндотелия и нейронов [4, 99, 108]. Еще одним механизмом реализации эффектов глюкозотоксичности является усиление полиолового (сорбитолового) пути обмена глюкозы.

Таким образом, хроническая гипергликемия оказывает прямое повреждающее воздействие и может непосредственно приводить к структурным изменениям различных компонентов клеточных мембран эндотелия сосудов и межклеточного вещества (гликирование, перекисное окисление белков и липидов), тем более необратимым и имеющим неблагоприятные последствия, чем выше концентрация и длительнее воздействие глюкозы и чем длиннее период полужизни белка. Поскольку клетки сосудистого эндотелия являются независимым от инсулина потребителем глюкозы, при гипергликемии резко возрастает и внутриклеточное содержание этого моносахарида, поэтому клетки эндотелия становятся преобладающими мишенями глюкозотоксичности.

Помимо непосредственного повреждающего воздействия на различные структуры организма, глюкоза может влиять на метаболизм клеток и тканей через экспрессию различных генов, в том числе и тех, белковые продукты которых участвуют в развитии сосудистой патологии при сахарном диабете [77]. Так, повышение концентрации глюкозы приводит к усилению биосинтеза таких компонентов базальной мембраны эндотелиальных клеток, как фибронектин, коллаген IV и ламинин [10, 65], что, вероятно, и обуславливает ее утолщение — важный патоморфологический признак изменения сосудистой стенки при сахарном диабете [58]. Увеличение массы межклеточного матрикса в почечных клубочках и утолщение базальной мембраны эндотелия происходит не только за счет стимуляции биосинтеза белков, но и в результате снижения их деградации при повышенном содержании глюкозы [61]. Концентрация глюкозы может, по-видимому, также регулировать уровень экспрессии генов глюкозного транспортера и фермента альдозоредуктазы в клетках эндотелия микро- и макрососудов и в перидитах сетчатки глаза [44, 73]. Эти данные еще раз подчеркивают, что в развитии сосудистой патологии при сахарном диабете метаболические и генетические факторы могут тесно взаимодействовать, проявляя как синергический, так и антагонистический эффект.

Генетические факторы риска и полиморфные маркеры патологии

Изучение диабетических микро- и макроангиопатий на популяционном и семейном уровнях свидетельствует также о наличии генетического компонента в этиопатогенезе этих осложнений [22, 92, 104], клиническое проявление и быстрота прогрессирования которых далеко не всегда коррелируют с уровнем компенсации углеводного обмена, длительностью диабета и(или) проводимым лечением. Еще одним указанием на присутствие генетических факторов в развитии одной из самых тяжелых форм диабетической микроангиопатии — диабетической нефропатии (ДН) — явилось

наблюдение случаев семейного накопления ДН [78, 89] и ее сцепленности с другими ангиопатиями, имеющими генетические факторы риска [106].

В последние годы достигнут заметный прогресс в изучении генетического компонента этиологически мультифакториальных микро- и макрососудистых нарушений, лежащих в основе сердечно-сосудистых заболеваний, артериальной гипертензии и ряда других сопутствующих патологий. С внедрением в медико-биологические исследования техники полимеразной цепной реакции — PCR (polymerase chain reaction) [84] и обнаружением различных видов полиморфизма в геноме человека активизировался поиск генетических маркеров, ассоциирующихся с микро- и макроангиопатиями.

Основной концепцией молекулярной генетики заболеваний вообще является представление об ассоциации определенных аллелей полиморфных генетических маркеров с предрасположенностью или устойчивостью к развитию патологии. Под полиморфным маркером понимают переменный участок ДНК с уникальной хромосомной локализацией, связанный с каким-либо признаком. Полиморфизм гена выражается в эволюционно закрепленном существовании в популяции нескольких вариантов (аллелей) одного и того же гена. Под ассоциацией генетического маркера с заболеванием понимают достоверно различающуюся частоту встречаемости (распространенность) определенного аллеля или парного набора аллелей (генотипа) этого маркера у больных и у здоровых лиц одной и той же популяции.

Следует отметить, что существует 2 основных типа полиморфизма. 1-й из них связан с изменениями в кодирующей области генов, приводящими к замене аминокислотных остатков в белковом продукте и часто (но не всегда) — к его структурно-функциональным модификациям. Близкими к этому типу полиморфизма следует считать вариации в регуляторных областях генов, приводящие к изменению уровня экспрессии мРНК и соответственно концентрации конечного продукта (белка). 2-й тип полиморфизма прямо не связан с изменениями концентрации, структуры и(или) функции продукта генной экспрессии. Такие виды полиморфизма могут даже располагаться на некотором расстоянии от интересующего нас гена. В этом случае полиморфный участок рассматривается лишь как удобный генетический маркер, который, по-видимому, физически сцеплен с каким-то другим полиморфным участком, пока не идентифицированным, но имеющим свою функциональную, т. е. фенотипическую (признаковую) выраженность.

Полиморфные маркеры могут быть представлены как закрепленными в популяции точечными мутациями (заменами одного нуклеотида другим), простыми повторами небольших участков нуклеотидов (ди-, три- и тетра-нуклеотидные повторы, еще называемые микросателлитами), так и другими модификациями участка генома, например типа вставки/отсутствия вставки (insertion/deletion — I/D) размером от 1 до нескольких десятков нуклеотидов. Такие виды полиморфных маркеров, как микросателлиты и вставка/отсутствия вставки, обычно не встречаются в кодирующих и регуляторных участках генов; в основном

они располагаются в интронах (некодирующих участках гена, чередующихся с кодирующими участками, которые называют экзонами) и даже на некотором расстоянии от маркерного гена, не являясь *per se* причиной предрасположенности или устойчивости носителя конкретного аллеля или генотипа к определенной патологии.

Если продукт экспрессии гена (фермент, гормон, рецептор, структурный или транспортный белок) может прямо или косвенно участвовать в развитии патологии, то этот ген принято называть геном-кандидатом. Сегодня использование полиморфных маркеров, сцепленных с различными генами-кандидатами, является основным подходом в изучении генетической предрасположенности к диабетическим ангиопатиям [13].

Эпидемиологическая генетика позволяет, зная накопленную к определенному возрасту распространенность какой-либо патологии в популяции и распределение частот встречаемости ассоциированного с этой патологией генетического маркера у больных и контрольных здоровых доноров, рассчитать относительный риск (relative risk—RR) данной патологии. Величина относительного риска указывает на увеличение (предрасположенность) или уменьшение (устойчивость) вероятности развития заболевания у носителя определенного аллеля или генотипа по сравнению с такой вероятностью для среднестатистического члена популяции. Данные о распределении частот встречаемости генетического маркера (аллеля, генотипа) среди здоровых доноров общей популяции и лиц с конкретной патологией, полученные в одномоментных исследованиях типа сравнения групп больных и здоровых лиц (случай—контроль), позволяют рассчитать величину отношения Оддс (Odds ratio—OR), отражающую относительный риск заболевания [94]. Для использования полиморфного генетического маркера в прогнозировании патологии недостаточно знать величины OR или RR, необходимо также определить прогностическую значимость (прогностичность) маркера. Эта прогностичность определяется степенью совпадения ожидаемой заболеваемости (на основании величины RR) с фактической заболеваемостью, т. е. с числом новых случаев болезни за год в наблюдаемых группах лиц. Прогностичность маркера заболевания может быть теоретически рассчитана с помощью специальных методов популяционной генетики. Практически же она выявляется (или подтверждается) в достаточно длительных динамических наблюдениях, как проспективных, так и ретроспективных [94].

Основные гены-кандидаты, их полиморфные маркеры и ассоциации

Ниже будут рассмотрены лишь некоторые из множества механизмов, предположительно участвующих в развитии диабетических ангиопатий, и соответствующих генов-кандидатов, для удобства условно объединенных в несколько основных групп.

1. Микроциркуляция и регуляция сосудистого тонуса. В регуляции гемодинамики и многих зависящих от нее процессов ведущую роль играет ренин-ангиотензиновая система (как общая, так и локальные, например сосудистые) [23]. Не касаясь альдостероновой ветви этой системы, упрощенно ее можно представить следующим обра-

зом: ангиотензиноген → ангиотензин I → ангиотензин II → рецепторы ангиотензина II → эффекты. Ангиотензиноген расщепляется образующимся в почках ферментом ренином с образованием неактивного пептида ангиотензина I. Другой фермент — локализованная на поверхности клеток эндотелия дипептидилкарбоксипептидаза I, чаще именуемая ферментом, превращающим ангиотензин (ФПА), — расщепляет неактивный ангиотензин I до вазоактивного октапептида ангиотензина II. Ангиотензин II, кроме сосудосуживающей активности, может через специфические рецепторы 2 типов стимулировать агрегацию тромбоцитов, адгезию моноцитов и макрофагов, пролиферацию клеток гладкой мускулатуры сосудов и миокарда, регулировать экспрессию гена одного из своих рецепторов в клетках разных тканей, стимулировать секрецию альдостерона надпочечниками. ФПА, не обладая высокой субстратной специфичностью, может расщеплять и другие физиологически активные пептиды, в частности такой вазодилатор, как брадикинин. Последний в свою очередь стимулирует освобождение эндотелиального фактора релаксации сосудов — окиси азота (NO[•]). Все шире используемые сегодня в клинике сахарного диабета ингибиторы этого фермента [115] снижают как образование ангиотензина II, так и распад брадикинина и дают, помимо гипотензивного и антипролиферативного, также антиатерогенный эффект. Для генов основных компонентов ренин-ангиотензиновой системы — ангиотензиногена, ФПА и сосудистого (тип I) рецептора ангиотензина II — найдены и интенсивно изучаются разнообразные полиморфные маркеры.

Ген ангиотензиногена (AGN) находится на хромосоме 1 человека. Для него описано более 15 различных полиморфных участков, из которых основной интерес представляют 2 точечные мутации в кодирующей области, приводящие к замене аминокислот метионина на треонин в положении 235 (полиморфизм M235T) и треонина на метионин в положении 174 (полиморфизм T174M) аминокислотной последовательности белкового продукта этого гена [35]. Клинически наиболее изучен двухаллельный полиморфизм в положении 235 (аллели M и T). В одних этнических популяциях была найдена ассоциация генотипа TT этого полиморфного маркера с артериальной гипертензией [35, 70], тогда как в другом исследовании эта ассоциация не подтвердилась [26]. Полиморфизм типа M235T гена AGN ни в японской, ни в датской популяции не ассоциировался с ДН у больных ИНСД [72] или у больных инсулинзависимым сахарным диабетом (ИЗСД) [98], однако генотип TT достоверно чаще встречался у больных ИЗСД с ДН на фоне повышенного артериального давления [98]. Артериальная гипертензия *per se* является фактором риска инфаркта миокарда [79], в то же время с повышенным риском коронарных заболеваний сердца и инфаркта ассоциируется и генотип TT гена AGN [40].

Для гена, кодирующего ФПА (ACE, *angiotensin I-converting enzyme*), картированного на хромосоме 17, описан двухаллельный полиморфизм типа вставка/отсутствие вставки (*insertion/deletion*) в 16-м интроне (аллели I и D). Вставка имеет размер 287 пар нуклеотидов (п. н.). [82], что по-

зволяет относительно легко идентифицировать соответствующие этим аллелям электрофоретические полосы после амплификации полиморфного участка гена. Это, а также связь уровня фермента в крови с полиморфизмом типа I/D гена ACE [81, 102] и растущий интерес врачей-диабетологов к ингибиторам фермента [115] в значительной степени объясняет столь широкую популярность полиморфизма типа I/D гена ACE в изучении генетической предрасположенности к различным сосудистым патологиям вообще и диабетическим ангиопатиям в частности.

Впервые распределение аллелей и генотипов этого полиморфного маркера было изучено во французской популяции среди здоровых лиц и мужчин, перенесших инфаркт миокарда в относительно молодом возрасте. Оказалось, что аллель D (*deletion*) и особенно гомозиготность по нему (генотип DD) является независимым фактором риска инфаркта миокарда [11]. Вскоре аналогичные данные были получены и для других популяций [24, 67, 116]. Однако имеются и работы, не подтверждающие маркерные свойства генотипа DD гена ACE в отношении инфаркта [6, 52]. Некоторые исследователи нашли, что аллель D и генотип DD ассоциируются не только и не столько с самим инфарктом, сколько с атеросклеротическими изменениями коронарных сосудов [2, 80]. Ассоциация генотипа DD с коронарными заболеваниями сердца была продемонстрирована не только для общих популяций разных этнических групп, но и для больных сахарным диабетом обоих типов [41, 86, 96].

Сходная ситуация сложилась с ассоциацией полиморфизма типа I/D гена ACE с ДН. Сначала одномоментные исследования типа случай—контроль в разных популяциях выявили ассоциацию 2 полиморфных маркеров гена ACE с ДН у больных как ИЗСД [3, 21, 47, 57], так ИНСД [20, 72]. Имеются, однако, исследования, не подтверждающие ассоциацию полиморфного маркера ID/ACE с ДН у больных сахарным диабетом обоих типов в различных популяциях [74, 90, 97]. Возможным объяснением таких расхождений в оценке этого генетического маркера при ДН могут быть различия использованных методологических подходов [13], клиническая гетерогенность обследованных больных, расовые и этнические различия частот встречаемости аллелей и генотипов в исследованных популяциях, а также этнические особенности клиники нефропатии и ее прогрессирования [5, 93]. Например, для общей популяции Москвы характерна необычно высокая частота встречаемости аллеля D, особенно в гомозиготном состоянии (генотип DD) [1, 19, 47]. Однако если принимается во внимание мультифакториальность диабетических ангиопатий (в частности, ДН), то с поправкой на другие факторы риска для генотипа DD гена ACE выявляется кодоминантный эффект [3].

Ген сосудистого (тип I) рецептора ангиотензина II (AGT1R) расположен на хромосоме 3 и имеет несколько полиморфных участков, в том числе и точечные нуклеотидные замены, приводящие к аминокислотным заменам серин → пролин в 6-м и глицин → аргинин в 45-м положениях белковой цепи (двухаллельные полиморфизмы) [85]. Найдены также другие двухаллельные полиморфизмы в некодирующей области гена, один из которых

(C → A в положении 1166 нуклеотида) достаточно широко исследован клинически [7]. Кроме того, в 3'-концевой области гена AGT1R показано также наличие микросателлита (CA)_n, который расположен на расстоянии примерно в 15 т. п. н. от конца кодирующей последовательности этого гена [16]. Во французской популяции было обнаружено 8 аллелей этого полиморфного локуса длиной от 132 до 146 п. н., включающих от 8 до 15 повторов CA [16]. Поиск ассоциации различных полиморфных маркеров гена AGT1R с артериальной гипертензией на популяционном и семейном уровнях пока не принес ожидаемых результатов [7, 85]. Для одного из полиморфных маркеров этого гена найдена связь с инфарктом миокарда [12].

Недавно было установлено, что хотя структурно-функциональные нарушения при развитии диабетических микро- и макроангиопатий различаются, у этих механизмов есть общий "посредник". Речь идет об уже упоминавшейся NO[•], вырабатываемой из L-аргинина NO-синтазой. NO[•] и NO-синтаза выполняют в сосудистом русле множество функций — от регуляции тонуса гладкой мускулатуры сосудов и влияния на ее пролиферацию, а также на агрегацию и адгезию тромбоцитов до взаимодействия с холестерином в составе липопротеинов низкой плотности, что приводит к изменению активности фермента [15, 63]. В организме человека имеются по меньшей мере 3 различных типа этого фермента, образующих из аминокислоты L-аргинина многофункциональной NO[•] [45] и кодируемых тремя различными генами.

В клетках эндотелия сосудов находится зависящая от Ca и калмодулина неиндуцируемая NO-синтаза, ген которой (NOS3) расположен на хромосоме 7. Хотя эндотелиальная NO-синтаза играет очень важную роль в поддержании нормального сосудистого тонуса, микросателлитный полиморфный маркер, локализованный в 13-м интроне гена NOS3 клинически еще мало изучен, главным образом из-за технических сложностей. Повтор типа (CA)_n представлен 23 аллелями (от 16 до 42 повторов) [66], у которых после амплификации этого участка гена размеры соответствующих полос при электрофорезе в геле почти не различаются. Описана ассоциация одного из аллелей гена NOS3 (33 повтора) с эссенциальной гипертензией в японской популяции [68], где этот аллель встречался у гипертоников в 2 раза чаще, чем у нормотоников. Более того, оказалось, что на экспрессию гена этой, как считалось до недавнего времени, неиндуцируемой формы эндотелиальной NO-синтазы может влиять уровень ангиотензина II в циркуляции: его снижение под действием ингибиторов ФПА увеличивает содержание мРНК эндотелиальной NO-синтазы в сердечной мышце человека и выработку NO[•], снижая тем самым гемодинамическую нагрузку на миокард [83].

Таким образом, с регуляцией гемодинамики и нарушением микроциркуляции при сахарном диабете связан целый комплекс генов-кандидатов, белковые продукты которых могут, по-видимому, не только участвовать в физиологических и патологических процессах, но и влиять на экспрессию других генов-кандидатов.

2. *Окислительный стресс и антиоксидантная защита.* Как уже отмечалось, при сахарном диабете глюкоза является одним из естественных источников образования свободных радикалов, а повышенный уровень этого моносахарида в крови больных сахарным диабетом существенно влияет и на систему антиоксидантной защиты в различных тканях. Основными ферментами, обеспечивающими нормальный баланс свободных радикалов в организме, являются зависящие от Mn и Cu/Zn формы супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы. В связи с этим представляют интерес полиморфные маркеры, сцепленные с генами, непосредственно кодирующими ферменты антиоксидантной защиты: например, гены каталазы и зависящий от Mn супероксиддисмутазы (Mn-SOD). Кроме того, как уже отмечалось, гипергликемия сопровождается нарушением системы внутриклеточной антиоксидантной защиты организма. Это связано с тем, что повышенное содержание глюкозы в крови у больных сахарным диабетом приводит к дисбалансу окислительного фосфорилирования и повышению концентрации побочных продуктов переноса электронов: супероксидного радикала (O₂[•]). Этот радикал в процессе реакции дисмутации, осуществляемой зависящей от Mn супероксиддисмутазы, превращается в перекись водорода. Таким образом, Mn-SOD является ключевым ферментом в инактивации супероксидного радикала на мембранах митохондрий. Однако перекись водорода способна распадаться на 2 высокореакционноспособных гидроксильных радикала (HO[•]), которые в свою очередь приводят к образованию целого спектра свободных радикалов и перекисей. Ферментом, разрушающим перекись водорода, является каталаза, которая наряду с Mn-SOD играет важную роль в инактивации свободных радикалов во всех клетках организма [101].

Ген, кодирующий Mn-SOD (SOD2), расположен на хромосоме 6. Рядом находится сцепленный с ним ген рецептора инсулиноподобного фактора роста 2 (локус 6q25.3). В нем обнаружено 2 полиморфных микросателлита, содержащих динуклеотидные повторы (TG)_n. Во французской популяции один микросателлит характеризовался наличием 4 аллелей и индексом гетерозиготности 0,45, у другого полиморфного участка было обнаружено 5 аллелей, а значение гетерозиготности составило 0,63 [71].

Ген каталазы (CAT) локализован на хромосоме 11. Вблизи этого гена также обнаружен высокополиморфный участок, состоящий из повторов (TG)_n. Во французской популяции было выявлено 6 аллелей этого микросателлита (гетерозиготность 0,73) [71]. Позже в московской популяции у больных ИНСД был найден еще один, 7-й, весьма редкий аллель этого полиморфного микросателлита. Представляет несомненный интерес изучение вышеупомянутых полиморфных микросателлитных маркеров у больных сахарным диабетом с различными осложнениями для выявления связи с риском развития этих ангиопатий.

Важным фактором риска атеросклероза вообще и коронарных заболеваний сердца в частности является нарушение липидного обмена. Долгое время основным действующим лицом атеросклеротического процесса считался холестерин.

Сегодня все большее значение придается сывороточным липопротеидам низкой и высокой плотности. Существенным фактором риска сердечно-сосудистой патологии является повышенный уровень липопротеинов низкой плотности, склонных к перекисному окислению и в результате становящихся особенно атерогенными [112]. В последние годы было обнаружено, что липопротеины высокой плотности не только удаляют холестерин из сосудистой стенки и транспортируют его в печень, но и содержат ферменты, расщепляющие липидные перекиси в составе липопротеинов низкой плотности [55]. Одним из таких ферментов является арилэстераза параоксоназа (PON) [54], получившая название по реакции гидролиза синтетического продукта окислительного десульфирования фосфорорганического инсектицида паратиона — параоксона.

Ген PON локализован на хромосоме 7 [33]. Внутри кодирующей последовательности обнаружено 2 полиморфных участка, возникших в результате точечных замен, которые приводят к присутствию или аргинина, или глутамина в положении 192 и либо метионина, либо лейцина в положении 55 аминокислотной последовательности фермента [33]. При этом именно наличие остатка аргинина в положении 192 обеспечивает высокую ферментативную активность PON в отношении искусственного субстрата параоксона, тогда как присутствие остатка глутамина в этом положении приводит к пониженной активности PON. Сведения о природных субстратах этого фермента пока немногочисленны, однако его участие в инаktivации липидных перекисей в составе липопротеинов низкой плотности (т. е. свойства естественного антиатерогенного фактора) сомнений не вызывают [55]. Недавно была изучена ассоциация этого полиморфного гена-кандидата с коронарными заболеваниями сердца у больных ИИЗСД во французской популяции [87]. Установлено существенное увеличение доли аллеля В (Arg192) и содержащих его генотипов (АВ и ВВ) у пациентов с коронарной недостаточностью по сравнению с больными ИИЗСД без коронарных заболеваний сердца. На основании этого сделан вывод о том, что наличие аллеля В в генотипах PON увеличивает популяционный риск развития коронарной болезни сердца [87]. По-видимому, нарушение баланса между уровнем перекисного окисления липидов и полиморфизмом гена PON, фенотипически выраженном в активности и(или) специфичности фермента, наиболее наглядно проявляется при сахарном диабете (особенно ИИЗСД).

3. Сорбитоловый путь обмена глюкозы. Как уже отмечалось, усиление полиолового (сорбитолового) пути обмена глюкозы при сахарном диабете является еще одним важным механизмом реализации эффектов глюкозотоксичности. Этот процесс обусловлен уже не столько химическими свойствами глюкозы, сколько концентрацией моносахарида и низким сродством к ней ключевого фермента этого метаболического пути глюкозы — альдозоредуктазы. Альдозоредуктаза восстанавливает глюкозу до сорбитола, который далее окисляется ферментом сорбитолдегидрогеназой до фруктозы. При нормальной концентрации глюкозы в крови альдозоредуктаза не в состоянии эффективно конкурировать с другими ферментами

обмена глюкозы (в частности, с гексокиназами) за субстрат, и образование сорбитола и фруктозы не превышает физиологических потребностей клеток и тканей в этих метаболитах глюкозы. При гипергликемии же метаболизм глюкозы сдвигается в сторону образования сорбитола, не способного быстро покинуть клетку. Последнее приводит к изменению осмотического давления в клетках и к нарушению глико- и фосфолипидного состава клеточных мембран за счет накопления сорбитола и вытеснения миоинозитола. Этот процесс вызывает новый каскад реакций, приводящих к структурно-функциональным изменениям в эндотелиальных клетках и нейронах [43], что заметнее всего проявляется в развитии диабетической нейропатии и ретинопатии [14]. Кроме того, альдозоредуктаза является зависимым от НАДФ ферментом, а при гипергликемии происходит не только активация сорбитолового пути обмена глюкозы с вовлечением в процесс уже имеющихся, но и биосинтез новых молекул фермента [73]. Это приводит к истощению клеточного пула НАДФ и способствует развитию окислительного стресса. В свою очередь ослабление суммарной активности других ферментов, зависимых от этого кофактора (в частности, эндотелиальной NO-синтазы), сопровождается снижением выработки NO[•]. NO[•], будучи реакционноспособным радикалом с весьма коротким периодом жизни, в условиях повышенного при гипергликемии уровня свободных радикалов еще быстрее ими инаktivируется, что только усугубляет эндотелиальную дисфункцию и ускоряет развитие различных видов диабетической ангиопатии.

Ген ключевого фермента сорбитолового пути обмена глюкозы — альдозоредуктазы (ALR2) расположен на хромосоме 7. Ввиду исключительно важной роли активации сорбитолового пути обмена глюкозы при сахарном диабете в развитии его поздних осложнений [43] ген этого фермента уже давно стал объектом поиска полиморфных маркеров, позволяющих проводить широкое изучение ассоциации гена ALR2 с диабетическими ангиопатиями и полинейропатией. И лишь совсем недавно был описан достаточно удобный для использования в клинической диабетологии полиморфный микросателлитный маркер типа (CA)_n, локализованный в 5'-концевой области гена альдозоредуктазы на расстоянии 2,1 т. п. н. от участка инициации транскрипции [46]. Впервые аллельный полиморфизм этого микросателлита был исследован в китайской популяции Гонконга, где было выявлено 7 аллелей размером 132—144 п. н., содержащих 21—27 динуклеотидных повторов [46]. Эти же авторы обнаружили ассоциацию данного полиморфного маркера с ранним развитием диабетической ретинопатии у больных ИИЗСД. Затем у больных ИИЗСД британской популяции была найдена связь гена ALR2 с ДН [31]. Сейчас этот полиморфный маркер интенсивно изучается в московской популяции применительно к различным осложнениям сахарного диабета обоих типов.

4. Обмен компонентов сосудистой стенки и межклеточного матрикса. Основным структурным изменением при развитии диабетических ангиопатий и в первую очередь ДН является экспансия клубочкового межклеточного матрикса [57], при которой обычно наблюдается, с одной стороны,

увеличение содержания различных видов коллагена и фибронектина [25, 62], а с другой — значительное снижение в базальных мембранах почечных клубочков концентрации гепарансульфат-протеогликана [56, 91, 95]. Последний является очень крупным, сложным по структуре полианионом, строго упорядоченное расположение которого в базальной мембране клубочков, по-видимому, и обеспечивает избирательную по заряду ультрафильтрацию белков плазмы крови [39]. Высокая концентрация глюкозы как важный этиологический фактор ДН оказывает на биосинтез и метаболизм указанных белков разнонаправленное действие. Изменения обмена белков и сульфогликопротеинов базальной мембраны и межклеточного матрикса при сахарном диабете, характерное для него увеличение проницаемости базальной мембраны сосудов независимо от наличия и типа ангиопатии привели к предположению об универсальной роли этих нарушений в развитии диабетических ангиопатий и формулировке гипотезы "Стено" [17]. Значительное место в ней отводится генетическим факторам, участвующим в регуляции метаболизма протеогликанов [18].

Для гена гепарансульфат-протеогликана (HSPG2), расположенного на хромосоме 1, описан полиморфизм длин рестриктазных фрагментов [36]. Несмотря на важное полифункциональное и, вероятно, патофизиологическое значение гепарансульфат-протеогликана ("перлекана") для сосудистой системы [37], описанный полиморфизм его гена изучен слабо. Имеется сообщение о возможной ассоциации полиморфизма длин рестриктазных фрагментов гена HSPG2 с ДН у больных ИЗСД [28]. О важной роли метаболизма сульфогликопротеинов в развитии диабетических ангиопатий и необходимости изучения генетических факторов, участвующих в его регуляции, свидетельствует также положительный клинический эффект (снижение протеинурии) от применения различных производных гепарина и препарата сулодексида, представляющего смесь природных гепарансульфат- и дерматансульфат-протеогликанов.

Недостаточность информации о роли генов HSPG2 и других протеогликанов в развитии сосудистой патологии при сахарном диабете связана, по-видимому, со сложностью структуры этих белков и их генов, а также с отсутствием полиморфных маркеров, более удобных для популяционных исследований.

5. Свертывающая и фибринолитическая система крови. Важным фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний при сахарном диабете (особенно при ИЗСД, ассоциированном с гиперинсулинемией, избыточной массой тела, артериальной гипертензией и гипертриглицеридемией), является нарушение гемостаза. Повышение в крови уровней фибриногена, фактора Виллебранда и ингибитора активатора плазминогена весьма характерны для гипертензии и ИЗСД [49, 64]. Склонность к тромбообразованию чревата повышенным риском развития у больных диабетом II типа инфаркта миокарда, инсульта и других фатальных (в частности, послеоперационных) осложнений. Сегодня для локусов нескольких генов, кодирующих белки—регуляторы гемостаза и потенциально важных для развития диабетических ангиопатий, найдены различные полиморфные маркеры. Это гены, кодирующие β -фибрино-

ген, ингибитор тканевого активатора плазминогена, факторы VII и Виллебранда, тромбоцитарный гликопротеин IIIa, для полиморфных маркеров которых предполагается ассоциация с повышенным риском тромбоза коронарных, мозговых, легочных и других важных артерий, приводящего к развитию острой ишемии и фатальному исходу [32, 75, 111]. Поскольку и сам ИЗСД, и характерные для него макроангиопатии очень гетерогенны, а проведение популяционно-генетических исследований достаточно сложно и трудоемко, однозначных данных о прямых ассоциациях указанных выше полиморфных маркеров с патофизиологическими процессами и их клиническими исходами пока немного.

Комплексный подход к оценке генетического риска ангиопатии

Из-за клинической гетерогенности и этиологической мультифакториальности диабетических ангиопатий вряд ли можно ожидать наличия сильной их ассоциации с полиморфным маркером какого-либо одного гена. Об этом свидетельствует и противоречивость результатов изучения таких ассоциаций. Сегодня наиболее перспективным представляется изучение не одного конкретного гена-кандидата, а комплекса маркеров нескольких генов (комбинаций генотипов). Такой подход был использован при изучении генетического риска инфаркта миокарда и оказался весьма многообещающим. Так, объединение полиморфных маркеров генов ACE (генотип DD) и AGT1R (гомозиготы, имеющие в положении 1066 нуклеотидной последовательности гена цитозин) позволило точнее оценить относительный риск инфаркта [103]. Подобный синергизм описан и для генов ACE (генотип DD) и AGN (генотип TT), являющихся, по-видимому, маркером максимального риска инфаркта миокарда в японской популяции [38].

Полиморфные маркеры и эффективность лечения

Некоторые полиморфные маркеры локализованы в кодирующей или регуляторной областях гена и имеют свое фенотипическое выражение в аминокислотной замене белковой цепи или концентрации белка. Это наглядно иллюстрирует один из полиморфизмов гена PON, приводящий к присутствию аргинина или глутамина в положении 192 аминокислотной последовательности фермента [33], причем обе изоформы имеют разную активность и, вероятно, субстратную специфичность. У гена ингибитора тканевого активатора плазминогена (PAI-1) полиморфизм типа вставка/отсутствие вставки представлен блоками из остатков G, состоящими либо из 4, либо из 5 остатков и расположенными в промоторной области гена. Предполагают, что под влиянием таких факторов среды, как уровень триглицеридов в крови, наличие этих полиморфных участков может приводить к изменению экспрессии гена и соответственно к изменению концентрации ингибитора активатора плазминогена, обладающего фибринолитическими свойствами [75].

Полиморфизм типа I/D гена ACE, хотя и находится в некодирующем участке гена, связан с концентрацией (активностью) ФПА и соответ-

венно влияет на уровень ангиотензина II: самая высокая концентрация фермента в крови ассоциировалась с генотипом DD, самая низкая — с генотипом II, тогда как гетерозиготы (генотип ID) имели промежуточные значения [90, 102]. Эта взаимосвязь важна для назначения препарата выбора (в частности, ингибиторов ФПА) при лечении и профилактике гипертензии, сердечно-сосудистых осложнений, ДН. Так, в голландском ретроспективном исследовании у носителей генотипа DD гена ACE отсутствовал ренопротективный эффект от эналаприла, тогда как максимально выраженный эффект был достигнут у носителей генотипа II [109]. Использование ингибиторов ФПА при лечении ДН в проспективном исследовании в датской популяции также было наименее эффективным у носителей генотипа DD [76].

Заключение

Изучение роли генетических факторов в этиопатогенезе диабетических ангиопатий привело к созданию различных моделей, объясняющих роль и взаимодействие генетических и негенетических (метаболических) факторов в развитии сосудистых осложнений, в частности ДН [48]. Согласно "аддитивной" модели, первичным и определяющим фактором риска является плохо контролируемая гликемия, а генетические факторы лишь модулируют скорость прогрессирования ДН. Эта модель, однако, игнорирует устойчивость к нефропатии некоторых больных ИЗСД, у которых почки интактны даже после нескольких десятилетий плохо компенсированного диабета. Подобные случаи лучше объясняет "интерактивная" модель, согласно которой ДН развивается только у лиц с генетической предрасположенностью, а метаболические факторы являются лишь модуляторами патологического процесса. Поскольку и эта модель не лишена недостатков, была предложена "смешанная" модель, предполагающая, что некоторые гены могут интерферировать с метаболическими факторами риска и инициировать развитие сосудистой патологии, тогда как другие гены модулируют скорость ее прогрессирования. Последняя модель более универсальна. Она хорошо согласуется с представлениями о клинической гетерогенности и этиологической мультифакториальности ДН и, по-видимому, может быть приложена и к другим сосудистым осложнениям сахарного диабета. В пользу этой модели говорит и тот факт, что, несмотря на выявление все новых и новых полиморфных маркеров диабетических ангиопатий, до сих пор не удалось обнаружить "главный" ген предрасположенности или устойчивости ни к одной из них.

Необходимо широкое и комплексное изучение полиморфных маркеров различных генов-кандидатов: распределение частот встречаемости их комбинаций в общей популяции и у больных сахарным диабетом с учетом вклада негенетических факторов риска в этиопатогенез сосудистых осложнений, динамические наблюдения групп высокого и низкого риска для оценки прогностичности маркеров. Только такой подход будет способствовать дальнейшему развитию модели генетической предрасположенности к диабетическим ангиопатиям и разработке на ее основе стратегии прогнозирования, вторичной профилактики и вы-

бора наиболее адекватной терапии сосудистых осложнений диабета.

ЛИТЕРАТУРА

1. Демуров Л. М., Чистяков Д. А., Чугунова Л. А. и др. // Молекул. биол. — 1997. — Т. 31, № 1. — С. 59—62.
2. Arbustini E., Grasso M., Fasani R. et al. // Brit. Heart J. — 1995. — Vol. 74. — P. 584—591.
3. Barnas U., Schmidt A., Illievich A. et al. // Diabetologia. — 1997. — Vol. 40. — P. 327—331.
4. Baynes J. W. // Diabetes. — 1991. — Vol. 40. — P. 405—412.
5. Bloem L. J., Manatunga A. L., Pratt J. H. // Hypertension. — 1996. — Vol. 27. — P. 62—67.
6. Bohn M., Berge K. E., Bakken A. et al. // Clin. Genet. — 1993. — Vol. 44. — P. 292—297.
7. Bonnardeaux A., Davies E., Jeunemaitre X. et al. // Hypertension. — 1994. — Vol. 24. — P. 63—69.
8. Brownlee M. // Clin. Invest. Med. — 1995. — Vol. 18. — P. 275—281.
9. Broze G. J., Miletich J. P. // Blood. — 1987. — Vol. 69. — P. 150—155.
10. Cagliero E., Roth T., Roy S., Lorenzi M. // Diabetes. — 1991. — Vol. 40. — P. 102—110.
11. Cambien F., Poirier O., Lecerf L. et al. // Nature. — 1992. — Vol. 359. — P. 641—644.
12. Chowdhury T. A., Dronsfeld M. J., Jones A. F., Bain S. C. // Lancet. — 1994. — Vol. 344. — P. 1502—1503.
13. Chowdhury T. A., Kumar S., Barnett A. H., Bain S. C. // Diabet. Med. — 1995. — Vol. 12. — P. 1059—1067.
14. Cohen M. P. // Pharmacology of Diabetes. Present Practice and Future Perspectives / Eds C. E. Mogensen, E. Standl. — Berlin, 1991. — P. 181—191.
15. Cooke J. P., Tsao P. // Curr. Opin. Cardiol. — 1992. — Vol. 7. — P. 799—804.
16. Davies E., Bonnardeaux A., Lathrop G. M. et al. // Hum. Mol. Genet. — 1994. — Vol. 3. — P. 838.
17. Deckert T., Feldt-Rasmussen B., Borch-Johnsen K. et al. // Diabetologia. — 1989. — Vol. 32. — P. 219—226.
18. Deckert T., Horowitz I. M., Kofoed-Enevoldsen A. et al. // Diabetes. — 1991. — Vol. 40. — P. 97—102.
19. Demurov L. M., Anokhin E. E., Kondratiev Y. Y. et al. // Eur. J. hum. Genet. — 1996. — Vol. 4, Suppl. 1. — P. 154.
20. Doi Y., Yoshizumi H., Yoshinari M. et al. // Diabetologia. — 1996. — Vol. 38. — P. 97—102.
21. Doria A., Warram J. H., Krolewski A. S. // Diabetes. — 1994. — Vol. 43. — P. 690—695.
22. Dubrey S. W., Reaveley D. R., Seed M. et al. // Ibid. — P. 831—835.
23. Draai V. J., Re R. // Circulation. — 1994. — Vol. 89. — P. 493—498.
24. Evans A. E., Oirier O., Kee F. et al. // Q. J. Med. — 1994. — Vol. 87. — P. 211—214.
25. Falk R. J., Scheinman J. I., Mauer S. M., Michael A. F. // Diabetes. — 1983. — Vol. 32, Suppl. 2. — P. 34—39.
26. Fornage M., Turner S. T., Sing C., Boerwinkle E. // Hum. Genet. — 1995. — Vol. 96. — P. 295—300.
27. Godine J. E. // Med. Clin. North Am. — 1988. — Vol. 72. — P. 1271—1284.
28. Hansen P. M., Pociot F., Deckert T. // Diabetologia. — 1994. — Vol. 37, Suppl. 1. — P. A4.
29. Harris M. I., Klein R. E., Welborn T. A., Knudman M. W. // Diabet. Care. — 1992. — Vol. 15. — P. 815—819.
30. Harris M. I. // Ibid. — 1993. — Vol. 16. — P. 642—652.
31. Heesom A., Hibberd M. L., Milward B. A., Demaine A. G. // Diabetes. — 1997. — Vol. 46. — P. 287—291.
32. Heywood D. M., Mansfield M. W., Grant P. J. // Diabet. Med. — 1996. — Vol. 13. — P. 720—725.
33. Humbert R., Adler D. A., Distecche C. M. et al. // Nature Genet. — 1993. — Vol. 3. — P. 73—76.
34. Hunt J. V., Smith C. C. T., Wolff S. P. // Diabetes. — 1990. — Vol. 39. — P. 1420—1424.
35. Jeunemaitre X., Soubrier F., Kotelevtsev Y. V. et al. // Cell. — 1992. — Vol. 71. — P. 169—180.
36. Kallunki P., Eddy R. L., Byers M. G. et al. // Genomics. — 1991. — Vol. 11. — P. 389—396.
37. Kallunki P., Tryggvason K. // J. Cell. Biol. — 1992. — Vol. 116. — P. 559—571.
38. Kamitani A., Rakugi H., Higaki J. et al. // Hypertension. — 1995. — Vol. 25. — P. 950—953.
39. Kanwar Y. S., Linker A., Farquhar M. G. // J. Cell. Biol. — 1980. — Vol. 86. — P. 688—693.
40. Katsuya T., Koike G., Yee T. W. et al. // Lancet. — 1995. — Vol. 345. — P. 1600—1603.

41. Keavney B. D., Dudley C. R. K., Stratton I. M. et al. // Diabetologia. — 1995. — Vol. 38. — P. 948–952.
42. King H., Rewers M. // Diabet. Care. — 1993. — Vol. 16. — P. 15–17.
43. Kinoshita J. H., Nishimura C. // Diabet. Metab. Rev. — 1987. — Vol. 4. — P. 323–354.
44. Knott R. M., Robertson M., Forsrester J. V. // Diabetologia. — 1993. — Vol. 36. — P. 808–812.
45. Knowles R. G., Moncada S. // Biochem. J. — 1994. — Vol. 298. — P. 249–258.
46. Ko B. C.-B., Lam K. S.-L., Wat N. M.-S. et al. // Diabetes. — 1995. — Vol. 44. — P. 727–732.
47. Kondratiev Y., Demurov L., Chugunova L. et al. // Diabetologia. — 1996. — Vol. 39, Suppl. 1. — P. A296.
48. Krolewski A. S., Doria A., Magre J. et al. // J. Amer. Soc. Nephrol. — 1992. — Vol. 3. — P. S9–S17.
49. Landin K., Tengbom L., Smith U. I. // J. intern. Med. — 1990. — Vol. 227. — P. 273–278.
50. Larkins R. G., Dunlop M. E. // Diabetologia. — 1992. — Vol. 35. — P. 499–504.
51. Leurs P. B., van Oerle R., Hamulyak K., Wolfenbuttel B. H. R. // Diabetes. — 1995. — Vol. 44. — P. 80–84.
52. Lindpaintner K., Pfeiffer M. A., Kreutz R. et al. // N. Engl. J. Med. — 1995. — Vol. 332. — P. 706–711.
53. Lorenzi M. // Diabet. Metab. Rev. — 1992. — Vol. 8. — P. 85–103.
54. Mackness M. I., Arrol S., Abbott C., Durrington P. N. // Atherosclerosis. — 1993. — Vol. 104. — P. 129–135.
55. Mackness M. I., Durrington P. N. // Ibid. — 1995. — Vol. 115. — P. 243–253.
56. Makino H., Ikeda S., Haramoto T., Ota Z. // Nephron. — 1992. — Vol. 61. — P. 415–421.
57. Marre M., Bernadet P., Gallois Y. et al. // Diabetes. — 1994. — Vol. 43. — P. 384–388.
58. Mauer S. M., Steffes M. W., Ellis E. N. et al. // J. clin. Invest. — 1984. — Vol. 74. — P. 1143–1155.
59. McCarthy D., Zimmet P. // International Diabetes Institute. A WHO Collaborating Centre for Diabetes Mellitus. — Melbourne, 1994.
60. McGuire A. // J. Diabet. Compl. — 1996. — Vol. 10. — P. 149–150.
61. McLennan S. V., Fisher E. J., Yue D. K., Turtle J. R. // Diabetes. — 1994. — Vol. 43. — P. 1041–1045.
62. Mohan P. S., Carter W. G., Spiro R. G. // Ibid. — 1990. — Vol. 39. — P. 31–37.
63. Moncada S., Palmer R. M. J., Higgs E. A. // Pharmacol. Rev. — 1991. — Vol. 43. — P. 109–142.
64. Morise T., Koni I., Takeuchi Y. et al. // Diabet. Care. — 1995. — Vol. 18. — P. 87–89.
65. Muona P., Peltonen J., Jaakkola S., Uitto J. // Diabetes. — 1991. — Vol. 40. — P. 605–611.
66. Nadaud S., Bonnardeaux A., Lathrop M., Soubrier F. // Biochem. biophys. Res. Commun. — 1994. — Vol. 198. — P. 1027–1033.
67. Nakai K., Itoh C., Miura Y. et al. // Circulation. — 1994. — Vol. 90. — P. 2199–2202.
68. Nakayama T., Soma M., Takahashi Y. et al. // Scientific Meeting of the International Society of Hypertension, 16-th: Abstracts. — Glasgo, 1996. — Abstract 16C.2.
69. Nava E., Lüscher T. F. // J. Hypertens. — 1995. — Vol. 13, Suppl. 2. — P. S39–S48.
70. Nishiura S., Kario K., Kayaba K. et al. // Ibid. — Vol. 13. — P. 717–722.
71. Nosikov V. V., Gavrilov D. K., Chumakov I. M. // European Society of Human Genetics. Annual Meeting, 27-th: Abstracts. — Berlin, 1995. — P. 245.
72. Ohno T., Kawazu S., Tomono S. et al. // Metabolism. — 1996. — Vol. 45. — P. 218–222.
73. Ohtaka M., Tawata M., Hosaka Y., Onaya T. // Diabetologia. — 1992. — Vol. 35. — P. 730–734.
74. Panagiotopoulos S., Smith T. J., Aldred P. et al. // J. Diabet. Compl. — 1995. — Vol. 9. — P. 272–276.
75. Panahloo A., Mahamed-Ali V., Lane A. et al. // Diabetes. — 1995. — Vol. 44. — P. 37–42.
76. Parving H.-H., Jacobsen P., Tarnow L. et al. // Brit. med. J. — 1996. — Vol. 313. — P. 591–594.
77. Pugliese G., Pricci F., Locuratolo N. et al. // Diabetologia. — 1996. — Vol. 39. — P. 775–784.
78. Quinn M., Angelico M. C., Warram J. H., Krolewski A. S. // Ibid. — P. 940–945.
79. Rakugi H., Yu H., Kamitani A. et al. // Amer. Heart J. — 1996. — Vol. 132. — P. 213–221.
80. Rasmussen L. M., Ledet T. // Diabetologia. — 1996. — Vol. 39. — P. 696–700.
81. Rigat B., Hubert C., Alhenc-Gelas F. et al. // J. clin. Invest. — 1990. — Vol. 86. — P. 1343–1346.
82. Rigat B., Hubert C., Corvol P., Soubrier F. // Nucl. Acids Res. — 1992. — Vol. 20. — P. 1433.
83. Rohrbach R., Darmer D., Morawietz H. et al. // Congress of the European Society of Cardiology, 18-th: Abstracts. — Birmingham, 1996. — Abstract 2196.
84. Rolfs A., Schuller I., Finckh U., Weber-Rolfs I. PCR: Clinical Diagnosis and Research. — Heidelberg, 1992.
85. Rolfs A., Weber-Rolfs I., Regitz-Zagrosek V. et al. // Eur. Heart J. — 1994. — Vol. 15. — P. 108–112.
86. Ruiz J., Blanche H., Cohen N. et al. // Proc. natl. Acad. Sci. USA. — 1994. — Vol. 91. — P. 3662–3666.
87. Ruiz J., Blanche H., James R. W. et al. // Lancet. — 1995. — Vol. 346. — P. 869–872.
88. Sakurai T., Tsuchiya S. // FEBS Lett. — 1988. — Vol. 236. — P. 406–410.
89. Seaquist E. R., Goetz F. C., Rich S., Barbosa J. // N. Engl. J. Med. — 1989. — Vol. 320. — P. 1161–1165.
90. Schmidt S., Schone N., Ritz E. et al. // Kidney int. — 1995. — Vol. 47. — P. 1176–1181.
91. Shimomura H., Spiro R. G. // Diabetes. — 1987. — Vol. 36. — P. 738–741.
92. Siperstein M. D. // Amer. J. Med. — 1988. — Vol. 85, Suppl. 5A. — P. 119–130.
93. Smith S. R., Svetkey L. P., Dennis V. W. // Kidney int. — 1991. — Vol. 40. — P. 815–822.
94. Stazi M. A. // An Introduction to the Genetics of Diabetes. A Practical Guide / Ed. P. Pozzilli. — London, 1995. — P. 21–27.
95. Tamsma J. T., Van den Born J., Bruijn J. et al. // Diabetologia. — 1994. — Vol. 37. — P. 313–320.
96. Tarnow L., Cambien F., Rossing P. et al. // Ibid. — 1995. — Vol. 38. — P. 798–803.
97. Tarnow L., Cambien F., Rossing P. et al. // Diabetes. — 1995. — Vol. 44. — P. 489–494.
98. Tarnow L., Cambien F., Rossing P. et al. // Ibid. — 1996. — Vol. 45. — P. 367–369.
99. Tesfamariam B. // Free Radical Biol. Med. — 1994. — Vol. 16. — P. 383–391.
100. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group // N. Engl. J. Med. — 1993. — Vol. 329. — P. 977–986.
101. The Role of Anti-oxidants in Diabetes Mellitus. Oxygen Radicals and Anti-oxidants in Diabetes / Eds F. A. Gries, K. Wessel. — Frankfurt am Main, 1993.
102. Tiret L., Rigat B., Visvikis S. et al. // J. hum. Genet. — 1992. — Vol. 51. — P. 197–205.
103. Tiret L., Bonnardeaux A., Poirier O. et al. // Lancet. — 1994. — Vol. 344. — P. 910–913.
104. Tolins P. J., Raij L. // N. Engl. J. Med. — 1988. — Vol. 319. — P. 180–181.
105. Tooke J. E., Morris S. J., Shore A. C. // Diabet. Res. clin. Pract. — 1996. — Vol. 31, Suppl. — P. S127–S132.
106. Trevisan R., Viberti G. C. // Diabet. Nutr. Metab. — 1995. — Vol. 8. — P. 159–165.
107. Tsai E. C., Hirsch I. B., Brunzell J. D., Chait A. // Diabetes. — 1994. — Vol. 43. — P. 1010–1014.
108. van Dam P. S., van Asbeck B. S., Erkelens D. W. et al. // Diabet. Metab. Rev. — 1995. — Vol. 11. — P. 181–192.
109. van Essen G. G., Rensma P. L., de Zeeuw D. et al. // Lancet. — 1996. — Vol. 347. — P. 94–95.
110. Vijayalingam S., Parthiban A., Shanmugasundaram K. R., Mohan V. // Diabet. Med. — 1996. — Vol. 13. — P. 715–719.
111. Weiss E. J., Bray P. F., Tayback M. et al. // N. Engl. J. Med. — 1996. — Vol. 334. — P. 1090–1094.
112. Witzum J. L., Steinberg D. // J. clin. Invest. — 1991. — Vol. 88. — P. 1785–1792.
113. Wohaieb S. A., Godin D. V. // Diabetes. — 1987. — Vol. 36. — P. 1014–1018.
114. Wolff S. P., Dean R. T. // Biochem. J. — 1987. — Vol. 245. — P. 243–250.
115. Yudkin J. S. // J. Diabet. Compl. — 1996. — Vol. 10. — P. 129–132.
116. Zhao Y., Higashimori K., Higaki J. et al. // Hypertens. Res. — 1994. — Vol. 17. — P. 55–57.