

Р. И. Туракулов, Д. А. Чистяков, Л. А. Чугунова, М. Ш. Шамхалова, М. В. Шестакова, В. В. Носиков, В. Г. Дебабов, И. И. Дедов

ПОЛИМОРФИЗМ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ МАРКЕРОВ ГЕНОВ АЛЬДОЗОРЕДУКТАЗЫ И КАТАЛАЗЫ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ К НЕФРОПАТИИ ПРИ ИНСУЛИНЗАВИСИМОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

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

Изучен полиморфизм динуклеотидного микросателлита в гене альдозоредуктазы (AR2) и двух микросателлитных повторов (локусы D11S907 и D11S2008) вблизи гена каталазы (CAT) в группах больных инсулинзависимым сахарным диабетом (ИЗСД) с наличием ($n = 27$) и отсутствием ($n = 41$) диабетической нефропатии (ДН). Группы формировали с использованием неперекрывающихся критериев отбора: в группу "ДН+" вошли пациенты с длительностью диабета менее 15 лет и клинической протеинурией, в группу "ДН—" — больные с продолжительным (более 20 лет) ИЗСД без протеинурии. Обнаружено 7 аллелей длиной 132—144 пары нуклеотидов (п.н.) гена AR2, а также 7 (длина 161—173 п.н.) и 8 (120—148 п.н.) аллелей локусов D11S907 и D11S2008 соответственно. Сравнительный анализ с использованием критерия Фишера не выявил достоверных различий в распределении аллелей и генотипов локусов AR2 и D11S2008 в группах "ДН+" и "ДН—". У больных ДН показано достоверное увеличение доли аллелей 15 (16,7% против 6,1%; $p < 0,005$) и 18 (29,6% против 15,9%; $p < 0,05$) локуса D11S907 на фоне существенного снижения встречаемости аллеля 17 (9,3% против 30,5%; $p < 0,005$) по сравнению с контрольной группой. Таким образом, полиморфизм гена AR2 не связан с нефропатией при ИЗСД, тогда как участок хромосомы 11 вблизи гена CAT обнаруживает тенденцию к сцеплению с данным заболеванием.

Polymorphism of dinucleotide microsatellite in the aldose reductase (AR2) gene and two polymorphic microsatellite markers (D11S907 and D11S2008) near catalase (CAT) gene were studied in insulin-dependent diabetics with and without diabetic nephropathy (DN). We formed the groups of patients to compare using the "extreme phenotype" approach. Twenty-seven proteinuric patients with relatively short diabetes duration (<15 years) and 41 patients with a longer diabetes duration (>20 years) without signs of DN served as the "case" (DN+) and "control" (DN-) groups, respectively. Seven alleles of the AR2 gene ranging from 132 to 144 base pairs (bp) long were detected. For D11S907 and D11S2008, seven and eight alleles from 161 to 173 and from 120 to 148 bp long were found, respectively. No significant differences in the distribution of alleles and genotypes of AR2 and D11S2008 loci in the DN+ and DN- groups were detected by Fisher's test. For D11S907, a significant increase in the frequency of both 15 (16.7% vs. 6.1%, $p < 0.05$) and 18 (29.6% vs. 15.9%, $p < 0.05$) alleles was revealed in DN patients in comparison with the controls, while the 17 allele of D11S907 was significantly rarer (9.3% vs. 30.5%, $p < 0.005$) in the "nephropaths" than in diabetics without DN. Hence, the polymorphism of the AR2 gene is not associated with DN in IDDM, while a chromosome region near the CAT gene is likely to be linked with the disorder.

Гипергликемия при сахарном диабете является одной из главных причин многочисленных метаболических нарушений, накопление которых приводит к развитию диабетической нефропатии (ДН) и других тяжелых сосудистых осложнений. Клетки эндотелия микрососудов, включая капилляры фильтрующего аппарата почек, являются одними из первичных мишеней пагубного влияния повышенных концентраций глюкозы (глюкозотоксичности). В условиях гипергликемии происходит неферментативное гликозилирование белков [5], носящее необратимый характер и сопряженное с перекисным окислением глюкозы, липидов и гликозилированных белков [12, 16, 21, 38, 39], включая коллаген сосудистой стенки [8, 37]. Это приводит организм в состояние окислительного стресса, выражающегося в повышении уровня крайне реакционноспособных свободных радикалов, нарушении баланса окислительно-восстановительных процессов и усилении неконтролируемых свободнорадикальных реакций с участием перекисей [41, 43].

Свободные радикалы кислорода и перекиси резко снижают выработку и содержание в крови вазодилатора окиси азота, что приводит к нарушению тонуса сосудов, вазомоторики и гемодинамики

[34]. Ионы металлов (Cu^{2+} , Fe^{3+}) усиливают окислительный стресс при диабете, внося дисбаланс в содержание метаболитов, витаминов и коферментов (НАДН, НАДФН, глутатион, аскорбиновая кислота, липоевая кислота и др.), участвующих в окислительно-восстановительных реакциях, способствуя окислению SH-групп ферментов и сократительных белков гладкой мускулатуры сосудов [23] и ускоряя повреждение хромосомной и митохондриальной ДНК [29]. При гипергликемии отдельные звенья системы антиоксидантной защиты испытывают повышенную нагрузку, что приводит к изменению содержания и экспрессии ферментов данной системы (супероксиддисмутазы, каталазы — САТ, глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы) и к ее ослаблению [25, 26, 44]. Во всяком случае в опытах *in vitro* описан феномен неферментативного гликозилирования САТ и супероксиддисмутазы при повышенном содержании глюкозы с последующей потерей модифицированными белками антигенных свойств [45].

Повышенные концентрации глюкозы активируют в эпителиальных клетках кровеносных сосудов синтез мРНК ряда структурных белков и фермен-

тов, включая фибринектин, коллаген IV, ламинин, альдозоредуктазу, САТ, глутатионпероксидазу и Cu-, Zn-зависимую супероксиддисмутаза [6, 7, 28, 33]. Это приводит к утолщению (гипертрофии) сосудистой стенки, увеличению массы межклеточного матрикса и структурной перестройке базальной мембраны в почечных клубочках, ведущей к нарушению селективности осуществляемой почками ультрафилтрации белков плазмы крови и протеинурии [18, 24]. Усиление экспрессии альдозоредуктазы активирует полиоловый путь глюкозного обмена, что приводит к накоплению в клетках эпителия сорбитола и патологическим изменениям внутриклеточного осмотического давления, ионного состава, структуры клеточных мембран и в конечном итоге может вызвать гибель клеток и разрушение капилляров [19].

В многочисленных опытах на животных моделях с искусственно индуцированным диабетом показаны изменения в уровне мРНК и содержании ферментов антиоксидантной защиты в почках, заключающиеся, как правило, в увеличении активности глутатионпероксидазы на фоне снижения активности Mn-зависимой супероксиддисмутаза и САТ [3, 17, 35, 40, 44]. При диабете в почках крыс отмечено усиленное образование перекисей липидов и снижение содержания глутатиона — процессы, свидетельствующие о развитии окислительного стресса [3, 22, 27, 35]. Инсулинотерапия возвращает данные изменения к норме [3, 40, 44]. Введение САТ наряду с использованием других антиоксидантов типа маннитола, бензоата, витамина Е, аскорбиновой кислоты и иминогуанидина (противогликозилирующий агент) в значительной мере ослабляет окислительный стресс при диабете [2, 37].

ДН, как и прочие диабетические ангиопатии, является многофакторным и полигенным заболеванием. Гены антиоксидантной защиты и полиолового пути обмена глюкозы можно по праву рассматривать в числе кандидатов на участие в развитии ДН. В настоящей работе мы предприняли попытку оценить возможный вклад генов САТ и альдозоредуктазы в генетическую предрасположенность к раннему развитию нефропатии при инсулинзависимом сахарном диабете (ИЗСД).

САТ является одним из основных ферментов системы антиоксидантной защиты, осуществляющим разложение перекиси водорода (продукта супероксиддисмутазной реакции) на воду и свободный кислород. Ген САТ находится на хромосоме 11p13 [15]. Для ассоциативного анализа мы использовали 2 полиморфных микросателлитных маркера (D11S907 и D11S2008), сцепленных с геном САТ и расположенных соответственно в 2,2 и 2 сМ от него в направлении к р-концу хромосомы. Микросателлит D11S907 включает множественные копии повтора СА. Во французской популяции найдено 6 аллелей данного локуса с числом повторов от 15 до 20 длиной от 163 до 173 пар нуклеотидов (п.н.) и гетерозиготностью 0,753 [9]. Тетрануклеотидный микросателлит локуса D11S2008 состоит из tandemно повторяющихся мотивов СТАТ. У британских европеоидов обнаружено 5 аллелей размером от 128 до 144 п. н., включающих от 17 до 21 повтора [30].

Альдозоредуктаза — ключевой фермент полиолового пути обмена глюкозы — катализирует реакцию зависимого от НАДФН восстановления гексоз в соответствующие шестиатомные спирты, превра-

щая D-глюкозу в сорбитол, а галактозу — в галактитол. Альдозоредуктаза относится к "суперсемейству" ферментов с альдо/кеторедуктазной активностью, гены которых картированы на различных хромосомах [4]. Экспрессия данного белка обнаружена во многих тканях и органах, в том числе в почках [31]. В 5'-концевой части гена альдозоредуктазы (AR2), примерно в 2,1 тыс. п.н. от участка начала репликации локализован динуклеотидный микросателлит, состоящий из tandemных повторов (CA)_n [20]. Впервые полиморфизм этого микросателлита исследован в китайской популяции Гонконга: найдено 7 аллелей от 132 до 144 п.н., содержащих от 21 до 27 динуклеотидных повторов [20]. У японцев обнаружена корреляция между данным полиморфизмом и содержанием альдозоредуктазы, заключающаяся в наличии максимальных уровней фермента у носителей аллелей с 23 и 28 повторами [13, 32]. Показана ассоциация данного полиморфного маркера с такими сосудистыми осложнениями, как диабетическая ретинопатия [13, 20, 32], ДН [10] и диабетическая нейропатия [11].

Материалы и методы

Обследовано 68 больных ИЗСД с возрастом манифестации до 20 лет. В зависимости от длительности диабета и наличия клинической протеинурии (альбуминурия ≥ 300 мг/сут) больные были разделены на 2 группы: "ДН+" ($n = 27$; длительность ИЗСД ≤ 15 лет, протеинурия) и "ДН-" ($n = 41$; длительность ИЗСД ≥ 20 лет, альбуминурия ≤ 200 мг/сут). Для оценки текущего нарушения углеводного обмена как метаболического фактора риска ДН у всех больных определяли уровень (в %) неферментативно гликированного гемоглобина (фракцию A₁) с помощью ионообменной хроматографии на биохимическом анализаторе ("Abbott Laboratories", США). Общая характеристика групп больных приведена в табл. 1.

Термостабильная ДНК-полимераза Tag получена от НПО "Биотех" (Москва). Олигонуклеотидные праймеры синтезированы НПО "Синтол" (Москва). Выделение геномной ДНК из венозной крови обследуемых осуществляли методом фенол-хлороформной экстракции [14]. Полиморфные участки геномной ДНК амплифицировали с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Амплифика-

Таблица 1
Общая характеристика обследованных групп больных ИЗСД с наличием (ДН+) и отсутствием (ДН-) ДН

Показатель (средний $\pm$ SD)	ДН+ ($n = 27$)	ДН- ($n = 41$)
Пол, м/ж	13/14	20/21
Возраст, годы	21,7 $\pm$ 4,1	38,2 $\pm$ 9,7
Возраст начала ИЗСД, годы	9,9 $\pm$ 4,1	10,8 $\pm$ 5,6
Длительность ИЗСД, годы	11,8 $\pm$ 2,2	27,3 $\pm$ 8,0
Уровень Hb A ₁ , %	12,0 $\pm$ 2,2	11,3 $\pm$ 2,5
Скорость экскреции белка, мг/сут	1453 $\pm$ 1247	24,7 $\pm$ 15,5
Систолическое давление, мм рт. ст.	131,1 $\pm$ 22,5	121,1 $\pm$ 14,5
Диастолическое давление, мм рт. ст.	86,1 $\pm$ 17,1	76,4 $\pm$ 8,9

Примечание. SD — стандартное отклонение.

Сравнительный анализ распределения частот встречаемости (в %) аллелей и генотипов гена AR2 у больных с наличием (ДН+) и отсутствием (ДН-) ДН

Генетический маркер	Частота встречаемости		<i>p</i> (Фишер)	<i>RR</i>
	ДН+ (<i>n</i> = 27)	ДН- (<i>n</i> = 41)		
Аллели:				
21	1,9	2,4	0,65334	0,88
22	3,7	3,7	0,69032	1,08
23	14,8	23,2	0,16482	0,60
24	29,6	26,8	0,71063	1,15
25	22,2	17,1	0,83415	1,41
26	22,2	22,0	0,60104	1,03
27	5,6	4,9	0,72042	1,19
Генотипы:				
21/23	0	2,4	0,60293	0,49
21/25	3,7	2,4	0,84591	1,59
22/23	3,7	0	0,39705	4,70
22/24	3,7	2,4	0,84591	1,53
22/25	0	4,9	0,35996	0,29
23/23	0	7,3	0,21271	0,20
23/24	14,8	17,1	0,54168	0,88
23/25	7,4	2,4	0,34522	2,65
23/26	3,7	2,4	0,84591	1,53
23/27	0	7,3	0,21271	0,20
24/24	3,7	12,2	0,22594	0,26
24/25	11,1	2,4	0,16880	3,86
24/26	14,8	7,3	0,27470	2,11
24/27	7,4	0	0,15408	6,45
25/25	7,4	4,9	0,83117	1,55
25/26	3,7	12,2	0,22594	0,26
25/27	3,7	0	0,39705	4,70
26/26	11,1	9,8	0,72529	1,19
26/27	0	2,4	0,60293	0,49

цию полиморфного участка гена AR2 проводили, как описано ранее [1]. Микросателлитные повторы рядом с геном CAT амплифицировали на термоциклере РНС-2 ("Techn", Великобритания) в 50 мкл реакционной смеси, содержащей 67 мМ трис-HCl pH 8,8, 16,7 мМ сульфат аммония, 0,2 мМ каждого dNTP, 1 мМ хлорид магния, по 5 пмоль каждого из праймеров, 0,1% твин-20, 50-100 нг геномной ДНК и 2,5 ед. полимеразы Tag. ПЦР проводили по следующей программе: начальная стадия (1 цикл) — 94°C/4 мин, основная стадия (35 циклов) — 94°C/1 мин, 50°C (D11S907) или 55°C (D11S2008)/1 мин, 72°C/1 мин: конечная стадия (1 цикл) — 72°C/6 мин. Амплификацию микросателлитного повтора D11S907 проводили в присутствии праймеров D11S907-1 (5'-GCT TATTGTCCCATACCCAAA-3') и D11S907-2 (5'-AAAGCACCTTAATTTCAGGC-3'). Полиморфный участок локуса D11S2008 амплифицировали с использованием праймеров D11S2008R (5'-CATC CATCTCATCCCATCAT-3') и D11S2008L (5'-TTCAC CCACTAGCCCAATTC-3'). Продукты ПЦР электрофоретически разделяли в 12% полиакриламидном геле, который затем окрашивали серебром [36].

Распределение аллелей и генотипов изученных локусов в группах больных сравнивали с использованием точного критерия Фишера. Достоверными считали различия при $p < 0,05$. Относительный риск (*RR*) рассчитывали по формуле [42]. $RR = 1$ рассматривали как отсутствие ассоциации, $RR > 1$ свидетельствовало о наличии предрасположенности (фактор риска), $RR < 1$ — о предохраняющем действии (защитный фактор) генетического маркера (аллеля или генотипа) к раннему развитию патологии.

Результаты и их обсуждение

Для снижения маскирующего влияния негенетических факторов риска и выявления генетического компонента в этиопатогенезе ДН формировали группы больных с использованием метода "случай—контроль" ("патология—отсутствие патологии"). Для формирования групп с клиническими фенотипами нефропатии ("ДН+", "случай") и ее отсутствия ("ДН-", "контроль") использовали специальные, неперекрывающиеся критерии отбора больных. В группу "случай" ("ДН+") вошли пациенты с относительно короткой продолжительностью ИЗСД (< 15 лет) и четко выраженным фенотипом нефропатии (с клинической протеинурией), тогда как группу "контроль" ("ДН-") составили больные с гораздо большей длительностью ИЗСД (> 20 лет), но без выраженной нефропатии (с нормо- и микроальбуминурией).

В обеих группах обнаружили 7 аллелей гена AR2 размером от 132 до 144 п.н. Аллели нумеровали, исходя из числа содержащихся в них повторов. Так, аллель длиной 132 п.н. с 21 динуклеотидным повтором получил порядковый номер 21, аллель размером 134 п.н., содержащий 22 повтора, — номер 22 и т. д. В обеих группах с частотой свыше 10% встречались 4 аллеля (23—26). Наибольшие различия в распределении аллелей касались аллеля 23, содержание которого у больных нефропатией было в 1,57 раза ниже, чем в группе "ДН-" ($RR = 0,60$) (табл. 2).

У больных ДН наиболее распространены генотипы 23/24, 24/25, 24/26 и 26/26, а в группе "ДН-" —

генотипы 23/24, 24/24 и 25/26 (см. табл. 2). Наибольшие значения *RR* характерны для гетерозигот 24/27 (6,45), 22/23 (4,70), 25/27 (4,70) и 24/25 (3,86), тогда как 5 других генотипов обладали значениями *RR* меньше 0,3 (наименьший относительный риск (0,20) у генотипов 23/23 и 23/27, не встречавшихся в группе "ДН+"). Однако наблюдаемые различия в частотах встречаемости аллелей и генотипов недостоверны, что свидетельствует об отсутствии связи между геном AR2 и ДН при ИЗСД в московской популяции. Ранее мы не обнаружили ассоциации между данным геном и нефропатией на значительно менее представительных выборках (19 больных с наличием ДН и 31 пациент с отсутствием ДН) [1]. Таким образом, увеличение объема групп обследованных почти в 1,5 раза по-прежнему не указало на наличие ассоциации.

Наши данные не соответствуют результатам исследований, проведенных в Великобритании и показавших четкую связь между геном альдозоредуктазы и предрасположенностью к ДН у больных ИЗСД [10]. У британцев с ДН наблюдали существенное увеличение встречаемости аллеля 23 (35,5% против 12,2%) генотипа 23/24 (44,2% против 8,9%) на фоне снижения доли аллеля 25 (8,6% против 38,9%) и гетерозигот 24/25 (46,7% против 8,9%) по сравнению с контрольной группой [10]. Тем не менее, на наш взгляд, для гена AR2 более характерно участие в развитии диабетической ретинопатии, чем ДН. Патологическая активация экспрессии данного гена и сорбитолового пути метаболизма

Таблица 3

Сравнительный анализ распределения частот встречаемости (в %) аллелей и генотипов локуса D11S2008 у больных с наличием (ДН+) и отсутствием (ДН-) ДН

Генетический маркер	Частота встречаемости		p (Фишер)	RR
	ДН+ (n = 27)	ДН- (n = 41)		
Аллели:				
15	0	1,2	0,60295	0,50
16	0	0	1,0	0,66
17	5,6	4,9	0,72042	1,19
18	25,9	34,1	0,20510	0,68
19	44,4	34,1	0,91742	1,54
20	20,4	15,9	0,81749	1,36
21	1,9	6,1	0,23205	0,40
22	1,9	3,7	0,47907	0,64
Генотипы:				
15/19	0	2,4	0,60293	0,49
17/18	7,4	2,4	0,34552	2,65
17/19	3,7	4,9	0,65448	0,89
17/20	0	2,4	0,60293	0,49
18/18	7,4	14,6	0,30854	0,54
18/19	22,2	24,4	0,53843	0,91
18/20	3,7	12,2	0,22594	0,38
18/21	3,7	0	0,39705	4,70
19/19	14,8	12,2	0,75334	1,27
19/20	29,6	12,2	0,07140	2,89
19/22	3,7	0	0,39705	4,70
20/20	3,7	0	0,39705	4,70
20/21	0	4,9	0,35996	0,29
21/21	0	2,4	0,60293	0,49
21/22	0	2,4	0,60293	0,49
22/22	0	2,4	0,60293	0,49

глюкозы и накопление сорбитола в клетках микрососудов вызывают более сильное и быстрое разрушительное действие на капилляры глазной сетчатки, чем на мелкие кровеносные сосуды фильтрующего аппарата почек.

У больных ДН найдено 6 аллелей локуса D6S2008 длиной от 128 до 148 п. н. В контрольной группе дополнительно обнаружен редкий аллель 15 размером 120 п.н.; аллель 16 длиной 124 п.н. отсутствует в обеих выборках. С частотой выше 10% встречались 3 аллеля, из которых в группе "ДН+" наиболее распространен аллель 19 (44,4%), тогда как в контрольной выборке максимальной частотой встречаемости (0,341) обладали 2 аллеля (18 и 19) (табл. 3). Наибольший риск связан с аллелем 19 ($RR = 1,54$), доля которого у больных ДН в 1,3 раза выше, чем у пациентов без нефропатии. Минимальный риск ($RR = 0,40$) характерен для относительно редкого аллеля 21, встречающегося у пациентов без ДН в 3,21 раза чаще.

У больных ДН наибольшими частотами встречаемости обладали генотипы 19/19 (0,148), 18/19 (0,222) и 19/20 (29,6) (см. табл. 3). В группе "ДН-" с частотой выше 0,1 встречались сразу 5 генотипов, а максимальным распространением обладал генотип 19/19 (24,4%). Наивысшие значения RR наблюдали у генотипов 19/20 (2,89), 18/21, 19/22 и 20/20 (у всех трех $RR = 4,70$), а наименьшие — у гетерозигот 18/20 (0,38) и 19/21 (0,29). Однако анализ по Фишеру не выявил достоверных различий в распределении аллелей и генотипов локуса D11S2008 в сравниваемых группах. Лишь накопление генотипа

Таблица 4

Сравнительный анализ распределения частот встречаемости (в %) аллелей и генотипов локуса D11S907 у больных с наличием (ДН+) и отсутствием (ДН-) ДН

Генетический маркер	Частота встречаемости		p (Фишер)	RR
	ДН+ (n = 27)	ДН- (n = 41)		
Аллели:				
14	5,6	3,7	0,44946	1,54
15	16,7	6,1	0,04627	2,94
16	22,2	31,7	0,15604	0,63
17	9,3	30,5	0,00250	0,25
18	29,6	15,9	0,04500	2,21
19	9,3	8,5	0,67958	1,12
20	7,4	3,7	0,27959	2,02
Генотипы:				
14/17	7,4	4,9	0,52222	1,55
14/18	3,7	2,4	0,64003	1,59
15/16	7,4	4,9	0,52222	1,55
15/17	0	4,9	0,35996	0,38
15/18	14,8	2,4	0,07677	5,17
15/19	11,1	0	0,05836	11,86
16/16	3,7	7,3	0,47776	0,62
16/17	3,7	14,6	0,14842	0,31
16/18	14,8	9,8	0,39491	1,60
16/19	3,7	14,6	0,14842	0,31
16/20	7,4	4,9	0,52222	1,55
17/17	0	12,2	0,07189	0,12
17/18	0	7,3	0,21271	0,20
17/19	0	2,4	0,60293	0,49
17/20	7,4	2,4	0,34552	2,65
18/18	11,1	4,9	0,30686	2,26
18/19	3,7	0	0,39705	4,70

19/20 в группе "ДН+" носило характер, близкий к достоверному ($p = 0,07$). Расширение объема исследованных выборок позволит уточнить, достоверно ли связано носительство данного генотипа с риском развития нефропатии при ИЗСД.

У другого микросателлитного локуса (D11S907) рядом с геном САТ показано наличие 7 аллелей длиной 161—173 п.н. В группе "ДН+" наиболее распространены аллели 15, 16 и 18, а в группе сравнения — аллели с 16, 17 и 18 повторами. У больных нефропатией показано достоверное ($p < 0,05$) увеличение частоты встречаемости аллелей 15 (16,7% против 6,1%; $RR = 2,94$) и 18 (29,6% против 15,9%; $RR = 2,21$) на фоне существенного снижения содержания аллеля 17 (9,3% против 30,5%; $RR = 0,25$; $p < 0,005$) (табл. 4). Это свидетельствует об ассоциации полиморфизма локуса D11S907 с ДН, причем носительство аллелей 15 и 18 связано с повышенным риском развития данной патологии, тогда как наличие аллеля 17, напротив, предохраняет от раннего развития ДН.

Различия в распределении генотипов локуса D11S907 между группами "ДН+" и "ДН-" не столь выражены, как в частотах аллелей. Однако накопление генотипа 15/19 у больных с наличием ДН (у пациентов с отсутствием ДН не обнаружен) очень близко к достоверному ($p = 0,058$) и связано с максимальным риском ($RR = 11,86$). Наименьший относительный риск (0,12) характерен для гомозиготного носительства аллеля 17. Этот генотип не найден у больных нефропатией, и различия в его доле в группах "ДН+" и "ДН-" также близки к дос-

товерным значениям ($p = 0,071$) (см. табл. 4). Сравнительный анализ расширенных групп больных позволит более точно определить достоверность наблюдаемых тенденций в перераспределении генотипов.

Таким образом, наличие достоверных различий в распределении аллелей одного локуса (D11S907) и отсутствие таковых у другого локуса (D11S2008) рядом с геном САТ не позволяет сделать однозначный вывод о наличии строгой ассоциации между геном САТ и ДН на фоне ИЗСД. Необходимо обследовать большее число больных, чтобы уточнить имеющиеся данные. Для более полной оценки вклада системы антиоксидантной защиты и отдельных ее звеньев в патогенез нефропатии и прочих диабетических ангиопатий необходим подобный ассоциативный анализ для генов, кодирующих другие компоненты данной системы (Cu-, Zn- и Mn-зависимая супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, глутатионтрансфераза и др.).

Выводы

1. Не обнаружено ассоциации между полиморфизмом динуклеотидного микросателлита в 5'-концевой части гена альдозоредуктазы и ДН при ИЗСД.

2. Исследован полиморфизм двух микросателлитов (локусы D11S907 и D11S2008), сцепленных с геном САТ. Не выявлено достоверных различий в частотах встречаемости аллелей и генотипов тетра-нуклеотидного полиморфного микросателлита в локусе D11S2008 у больных с наличием и отсутствием ДН. В то же время показано достоверное увеличение доли аллелей 15 и 18 на фоне существенного снижения содержания аллеля 17 динуклеотидного микросателлита в локусе D11S907. Таким образом, существует предположение о наличии связи между геном САТ и развитием ДН при ИЗСД в московской популяции; уточнить выраженность этой тенденции позволит анализ расширенных групп больных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чистяков Д. А., Туракулов Р. И., Горашко Н. М. и др. // Молекул. биол. — 1997. — Т. 31. — С. 778—781.
2. Юсупова А. М. // Педиатрия. — 1985. — № 8. — С. 43—45.
3. Asayama K., Hayashibe H., Dobashi K. et al. // Diabet. Res. — 1989. — Vol. 12. — P. 85—91.
4. Bateman J. B., Kojis T., Heinzmann C. et al. // Genomics. — 1993. — Vol. 17. — P. 560—565.
5. Brownlee M. // Clin. Invest. Med. — 1995. — Vol. 18. — P. 275—281.
6. Cagliero E., Roth T., Roy S., Lorenzi M. // Diabetes. — 1991. — Vol. 40. — P. 102—110.
7. Ceriello A., dello Russo P., Amstad P., Cerutti P. // Ibid. — 1996. — Vol. 45. — P. 471—477.
8. Elgawish A., Glomb M., Friedlander M., Monnier V. M. // J. biol. Chem. — 1996. — Vol. 271. — P. 12964—12971.
9. Gyapay G., Morissette J., Vignal A. et al. // Nature Genet. — 1994. — Vol. 7. — P. 246—339.

10. Heesom A. E., Hibberd M. L., Millward B. A. // Meeting of the European Association for Study of Diabetes, 32-nd: Abstracts. — Vienna, 1996. — Abstr. 220.
11. Heesom A. E., Millward A., Demaine A. G. // J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. — 1998. — Vol. 64. — P. 213—216.
12. Hunt J. V., Smith C. C. T., Wolff S. P. // Diabetes. — 1990. — Vol. 39. — P. 1420—1424.
13. Ikeguchi Y., Tawata M., Aida K., Onaya T. // Neurology. — 1993. — Vol. 43. — P. 1141—1149.
14. Johns M. B., Paulus-Thomas J. E. // Analyt. Biochem. — 1989. — Vol. 80. — P. 276—278.
15. Junien C., Turleau C., de Grouchi J. et al. // Ann. Genet. — 1980. — Vol. 23. — P. 165—168.
16. Kajanachumpol S., Komindr S., Mahaisiriyodom A. // J. med. Ass. Thailand. — 1997. — Vol. 80. — P. 372—377.
17. Kakkar R., Kalra J., Mantha S. V., Prasad K. // Pharmacol. Biochem. Behav. — 1995. — Vol. 151. — P. 113—119.
18. Kanwar Y. S., Linker A., Farquhar M. G. et al. // J. Cell Biol. — 1980. — Vol. 86. — P. 688—693.
19. Kinoshita J. H., Nishimura C. // Diabet. Metab. Rev. — 1987. — Vol. 4. — P. 323—354.
20. Ko B. C. B., Lam K. C. L., Wat N. M. S. et al. // Diabetes. — 1995. — Vol. 44. — P. 727—732.
21. Koyama I., Yakushiji M., Goseki M. et al. // Clin. chim. Acta. — 1998. — Vol. 275. — P. 26—41.
22. Kumar J. S., Menon V. P. // Indian J. med. Res. — 1992. — Vol. 96. — P. 176—181.
23. Lai S., Chithra P., Chandakasan G. // Molec. cell Biochem. — 1996. — Vol. 154. — P. 95—100.
24. Makino H., Ikeda S., Haramoto T., Ota Z. // Nephron. — 1992. — Vol. 61. — P. 415—421.
25. Matcovics B., Kotorman M., Varga I. S. et al. // Acta physiol. Acad. Sci. hung. — 1997. — Vol. 85. — P. 99—106.
26. Matcovics B., Kotorman M., Varga I. S. et al. // Ibid. — P. 107—112.
27. Mukherjee B., Mukherjee J. R., Chatterjee M. // Immunol. Cell Biol. — 1994. — Vol. 72. — P. 109—114.
28. Muona P., Peltonen J., Jaakkola S., Uitto J. // Diabetes. — 1991. — Vol. 40. — P. 605—611.
29. Murata M., Imada M., Inoue S., Kawanishi S. // Free Radic. Biol. Med. — 1998. — Vol. 25. — P. 586—595.
30. Murray J. C. // *Импернем* // <http://www.chlc.org/cgi-bin/MarkerSearch?GATA48E08>.
31. Nishimura C., Graham C., Hohman T. C. // Biochem. biophys. Res. Commun. — 1988. — Vol. 153. — P. 1051—1059.
32. Ogata M., Iwasaki N., Kanamori M. et al. // Congress of the International Diabetes Federation, 16-th: Abstracts. — Helsinki, 1997. — Abstr. 0656.
33. Ohtaka M., Tawata M., Hosaka Y., Onaya T. // Diabetologia. — 1992. — Vol. 35. — P. 730—734.
34. Pieper G. M., Siebeneich W. // J. Pharmacol. exp. Ther. — 1997. — Vol. 283. — P. 138—147.
35. Reddi A. S., Bollineni J. S. // Biochem. biophys. Res. Commun. — 1997. — Vol. 235. — P. 598—601.
36. Sajantilla A., Budowle B., Strom M. // Amer. J. hum. Genet. — 1992. — Vol. 50. — P. 816—825.
37. Sajithlal G. B., Chithra P., Chandrakasan G. // Free Radic. Biol. Med. — 1998. — Vol. 25. — P. 265—269.
38. Sakurai T., Tsushiya S. // FEBS Lett. — 1988. — Vol. 236. — P. 406—410.
39. Schleicher E. D., Wagner E., Nerlich A. G. // J. clin. Invest. — 1997. — Vol. 99. — P. 457—468.
40. Sechi L. A., Ceriello A., Griffin C. A. et al. // Diabetologia. — 1997. — Vol. 40. — P. 23—25.
41. Tesfamariam B. // Free Radic. Biol. Med. — 1994. — Vol. 16. — P. 383—391.
42. Thomson G. // Theor. Popul. Biol. — 1981. — Vol. 20. — P. 168.
43. Van Dam P. S., van Asbeck B. S., Erkelens D. W. et al. // Diabet. Metab. Rev. — 1995. — Vol. 11. — P. 181—192.
44. Wohaeib S. A., Godin D. V. // Diabetes. — 1987. — Vol. 36. — P. 1014—1018.
45. Yan H., Harding J. J. // Biochem. J. — 1997. — Vol. 328. — P. 599—605.