

КЛИНИЧЕСКИЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 575+616.61:616.379-008.64

И.А. Бондарь¹, М.Л. Филиппенко², И.П. Рогова¹, Е.Н. Воронина²

ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА МЕТИЛЕНТЕТРАГИДРОФОЛАТРЕДУКТАЗЫ, eNO-СИНТАЗЫ И РАЗВИТИЯ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕФРОПАТИИ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ I ТИПА

¹Новосибирская государственная медицинская академия (Новосибирск)²Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАМН (Новосибирск)

В последние годы обсуждается роль гомоцистеина, оксидативного стресса и других факторов в развитии диабетической нефропатии. Целью исследования явилось определение полиморфизма гена МТГФР и гена eNOS3, их влияние на развитие диабетической нефропатии у больных сахарным диабетом I типа. Обследовано 145 больных сахарным диабетом I типа, из них 40 – с длительностью течения заболевания до 5 лет, быстрым прогрессированием диабетической нефропатии, 24 – длительность заболевания более 10 лет, без нефропатии, 81 – длительность диабета от 5 лет до длительно текущего, с классическими сроками развития осложнений. Контрольная группа включала 99 практически здоровых людей. Выводы: частота мутантного аллеля T677 и гомозиготной мутации у больных сахарным диабетом I типа наблюдается в три раза чаще, чем в общей популяции. Не выявлена ассоциация мутации гена МТГФР с быстрой прогрессированием диабетической нефропатии. В популяции больных диабетом с быстрым прогрессированием выявлено отсутствие генотипа 4a/4a, снижение доли редкого аллеля 4a, гетерозиготного генотипа 4a/4b.

Ключевые слова: сахарный диабет, диабетическая нефропатия, ген метилентетрагидрофолатредуктазы, ген эндотелиальной NO-синтазы

THE RELATION OF METHYLENETETRAGYDROFOLATE REDUCTASE AND eNOS3 GENE POLYMORPHISM WITH DEVELOPMENT OF DIABETIC NEPHROPATHY IN TYPE I DIABETIC PATIENTS

I.A. Bondar¹, M.L. Filipenko², I.P. Rogova¹, E.N. Voronina²¹State medical academy, Novosibirsk²Institute of Chemical Biology and fundamental Medicine of SB RAMS, Novosibirsk

Last years the role of homocysteine, oxidative stress and other factors in development of diabetic nephropathy is discussed. The purpose of this study was to investigate the MTHFR gene and eNOS3 gene polymorphism, their influence on development of diabetic nephropathy of the patients with type 1 diabetes mellitus. 145 patients with type 1 diabetes mellitus (40 patients with diabetes duration < 5 years and rapid development of diabetic nephropathy and 24 ones with duration of disease more than 10 years without nephropathy as well as 81 patients with diabetes duration from 5 years to long current with classical terms of development of complications) were observed. The control group comprised of 99 healthy people. Conclusions: the frequency of alleles T677 and homozygous mutations was higher in three times in patients with 1 type diabetes as compared to control group. The association between the MTHFR gene mutations and rapid development of diabetic nephropathy was not revealed. In the population of diabetic patients with rapid development of diabetic nephropathy the absence of a genotype 4a/4a as well as the decrease of proportion of rare alleles 4a and heterozygous genotype 4a/4b was revealed.

Key words: diabetes mellitus, diabetic nephropathy, gene MTHFR, gene eNOS3

Диабетическая нефропатия (ДН) встречается у 20 – 40 % всех диабетических больных и является самой частой причиной развития почечной недостаточности. Пусковой причиной, вызывающей ДН, является гипергликемия. К факторам прогрессирования ДН многие исследователи [1, 3, 8] относят нарушенную внутривисцеральную гемодинамику, артериальную гипертензию, нарушение липидного обмена, протеинурию, ишемию почки. В после-

дние годы все чаще обсуждается роль оксидативного стресса, нарушение обмена протеогликанов, цитокинов, вазоактивных факторов, факторов роста и гомоцистеина (ГЦ).

Показано, что гипергомоцистеинемия способствует развитию многих сосудистых заболеваний независимо от традиционных факторов риска и является прогностическим маркером летального исхода [3, 8]. Основным местом повреждающего

действия ГЦ является внутренняя поверхность сосудов — эндотелий. ГЦ оказывает одновременно атерогенное и тромбоваскулярное действие [16], тем самым может способствовать развитию сосудистых осложнений и, вероятно, ДН.

ГЦ — серосодержащая аминокислота, являющаяся промежуточным продуктом обмена аминокислот метионина и цистеина. В нормальных условиях ГЦ метаболизируется в ходе двух основных реакций. Первая — реметилирование ГЦ в метионин с участием ферментов метилентетрагидрофолатредуктазы и метионинсинтазы, витамина В12, как кофактора и 5-метилтетрагидрофолата (производного фолиевой кислоты), как донора метильной группы. Второй реакцией является сульфирование ГЦ в цистатионин (который в дальнейшем используется для синтеза цистеина) при участии цистатионинсинтазы в присутствии витамина В6.

К одной из причин увеличения содержания ГЦ в плазме крови относятся генетические дефекты, приводящие к недостаточности ферментов, ответственных за метаболизм этой аминокислоты [3]. Основное клиническое значение имеют полиморфизм МТГФР С677Т и цистатионинсинтазы, в то время как дефекты генов других ферментов играют существенно меньшую роль в метаболизме ГЦ. Наиболее часто встречается гомозиготная недостаточность фермента цистатионинсинтазы, в результате которой происходит нарушение превращения ГЦ в цистеин. Гетерозиготная недостаточность цистатионинсинтазы связана с более умеренным снижением активности этого фермента (примерно на 50 %, по сравнению с гомозиготной мутацией) и менее выраженной гипергомоцистеинемией [17].

Ген МТГФР локализован на хромосоме 1p36.3. Известно около двух десятков различных мутаций в этом локусе. Наиболее широко изучается аутосомно-рецессивная гомозиготная мутация гена МТГФР, при которой происходит замена цитозина на тимин в 677 нуклеотиде (мутация С677Т). [15]. В результате аланин замещается валином, МТГФР оказывается термолabileй, а ее активность снижается до 30 % от нормального уровня при гомозиготном и до 65 % при гетерозиготном носительстве, что приводит к нарушению реметилирования ГЦ в метионин и, как следствие, к гипергомоцистеинемии. [17]. Гипергомоцистеинемия при полиморфизме МТГФР С667Т носит умеренный характер и встречается у 5 — 14 % лиц здоровой популяции [17].

Для населения России в литературе есть данные лишь о частоте мутации С677Т в гене МТГФР у больных варикозным расширением вен. По данным М.Г. Спиридоновой, В.А. Степанова, В.П. Пузырева, Р.С. Карпова (2000), частота данной мутации для сельского населения Западной Сибири совпадает с частотами мутантного аллеля в большинстве европейских популяций. Мутантный аллель Т677 гена МТГФР распределяется в популяциях мира с высокой гетерогенностью. Его частота у народонаселения нашей планеты варьирует от полного отсутствия в некоторых африканских племенах до 0,55 у испанцев [15, 17].

Другая мутация генов, которая участвует в развитии сосудистых осложнений СД, связана с генами, регулирующими свободно-радикальные механизмы. Предполагают, что данный механизм повреждения органов и тканей может играть существенную роль в развитии сосудистых осложнений СД, в т.ч. и ДН, поскольку почки очень чувствительны к оксидантному стрессу.

Механизмы нефротоксического действия продуктов перекисного окисления различны. По обобщенным данным D. Giugliano (1996), они включают дисрегуляцию тонуса почечных сосудов, влекущую нарушение внутривисцеральной гемодинамики; пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов; снижение синтеза гепаран-сульфата, обеспечивающего зарядоселективность базальных мембран почечных клубочков; образование продуктов перекисного окисления липидов, обладающих цитотоксическим эффектом и нарушающих функцию проксимальных канальцев почек.

К наследственным факторам, прямым или косвенным образом формирующим генетическую предрасположенность к данной патологии, относится ген эндотелиальной NO-синтазы (eNOS). Этот фермент катализирует реакцию образования окиси азота. NO играет важную роль в регуляции тонуса кровеносных сосудов, работе гладкомышечной мускулатуры сосудистой стенки и процессах тромбообразования. [6]. Однако избыточное содержание окиси азота, который выступает в роли вазоактивного фактора, способно нарушать внутривисцеральную гемодинамику [8].

Ген NOS3 расположен на хромосоме 7q36 и состоит из 26 экзонов. Минисателлит eNOS4b/4a в 4-м интроне насчитывает 2 аллеля, состоящих из 4 или 5 tandemных повторов размером 27 пар нуклеотидов (п. н.). Аллель eNOS4a включает 4 повтора и короче другого аллеля (eNOS4b) на 27 п. н. В популяции аллель eNOS4b встречается значительно чаще, чем аллель с 4 повторами. По данным некоторых исследований, у лиц, гомозиготных по редкому аллелю (4a/4a), уровень нитратов и нитритов в крови, напрямую связанный со скоростью выработки NO эндотелием сосудов, достоверно выше, чем у лиц с генотипом 4b/4b. Некоторые авторы (Воронько О.Е., Чистяков Д.А., Шестакова М.В. и соавт., 2000; Минушкина Л.О., Затеищиков Д.А. и соавт., 2002) рассматривают потенциальную генетическую роль генотипа 4a/4a как фактора риска развития атеросклероза и заболеваний, приводящих к нарушению нормальной выработки окиси азота [6].

Целью исследования явилось изучение роли полиморфизма генов МТГФР и eNOS у больных СД типа 1 в прогрессировании сосудистых осложнений СД (нефропатии).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 145 больных СД типа 1, в возрасте от 16 до 63 лет, которые были разделены на три группы. Первая группа (40 человек) — пациенты с СД типа 1, с длительностью заболевания до 5 лет, с ранним развитием сосудис-

тых осложнений, в том числе ДН. Вторая группа представлена пациентами с СД типа 1 (24 человека), с длительностью заболевания более 10 лет, но без ДН и тяжелых ангиопатий другой локализации.

Средний возраст больных первой группы составил $26,8 \pm 8,8$ лет, из них было 22 мужчин и 18 женщин; средний возраст больных второй группы — $35,6 \pm 13,9$ лет, из которых 12 мужчин и 12 женщин.

Третья группа являлась группой сравнения и была представлена больными СД типа 1, с различной длительностью заболевания (от 5 лет до длительно текущего), классическими сроками развития сосудистых осложнений, наличием тяжелых хронических и острых осложнений (ХПН, кетоацидотическое состояние) — 81 человек. Средний возраст составил $32,7 \pm 12,1$ лет. Мужчин было 38, средний возраст $34,6 \pm 10,7$ лет, женщин было 43, их средний возраст составил $31,2 \pm 13,6$.

Пациентам всех групп проводилось исследование основных биохимических показателей, таких как: уровень холестерина, триглицеридов, креатинина, мочевины, общего белка, билирубина, фибриногена, АЛТ, АСТ, средний суточный уровень гликемии, НвА1с.

Другую группу сравнения составили практически здоровые люди — 99 человек, средний возраст $40,4 \pm 0,9$ лет, из них 47 мужчин, средний возраст $39,5 \pm 1,4$ лет, 52 женщины, средний возраст $41,3 \pm 1,2$ лет (табл. 1).

Выделение ДНК гена МТГФР проводилось группой фармакогеномики (Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАМН ИХБФМ СО РАМН, директор — академик РАМН В.В. Власов), с помощью фенол-хлороформной экстракции с протеиназой К. Полиморфные участки амплифицировали с помощью полимеразной цепной реакции на амплификаторе «Eppendorf», использовали праймеры, синтезированные в ИХБФМ СО РАМН. При гидролизе амплификационного фрагмента гена МТНFR эндонуклеазой рестрикции TaqI выявлялось три фрагмента размером 184 п.н., 102 п.н. и 82 п.н. Фрагмент 184 п.н. соответствует амплификационному фрагменту, не подвергнувшемуся гидролизу, что указывает на присутствие аллеля С677 гена МТНFR. При наличии аллеля Т677 происходит разрезание амплификационного фрагмента ДНК на два, размером 102 п.н. и 82 п.н. Анализ продуктов гидролиза проводили в 8 % ПААГ, гель

окрашивали бромистым этидием с визуализацией ДНК УФ-светом, затем фотографировали с помощью цифровой видеокамеры Vatec (Япония).

Исследование полиморфизма eNOS проводили с помощью ПЦР с праймерами, фланкирующими полиморфный регион в пределах четвертого интрона, в котором находится вариабельное количество tandemных повторов — 27 п.н. (VNTR). В результате амплификации детектировали фрагменты ДНК размером 255 и 282 п.н. с 4 и 5 tandemными повторами, соответственно. Эти аллели были обозначены как 4R и 5R в данном исследовании и соответствовали аллелям eNOS 4a и 4b.

У больных сахарным диабетом 1 и 2 группы исследовался уровень гомоцистеина на анализаторе IMMULITE 2000 наборами Homocysteine.

Для обнаружения ассоциации применялись стандартные генетико-статистические методы. Парное сравнение контрольных и опытных частот проводилось с помощью критерия χ^2 . Статистический анализ проводился в программе Biostat.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полиморфизма гена МТГФР у больных сахарным диабетом типа 1 выявил преобладание нормального аллеля С677 данного гена, который определялся у 67,7 % пациентов. При этом мутантный аллель Т677 гена МТГФР встречался у 32,3 %. В контрольной группе частота встречаемости аллеля Т677 гена МТГФР была меньше, чем у больных СД типа 1 и составила 26,2 %. У больных СД типа 1 с одинаковой частотой встречался гомозиготный генотип С677С и гетерозиготная мутация гена — по 45,1 %, у 9,8 % больных отмечалась гомозиготная мутация гена (Т677Т). При этом в общей популяции преобладал гомозиготный (нормальный) генотип С677С — 51,2 %. Частота гетерозиготной мутации не отличалась от таковой у больных с СД типа 1 и составила 45,3 %, тогда как, гомозиготная мутация Т677Т наблюдалась в 3 раза чаще при СД типа 1, чем в контрольной группе (табл. 2).

Так как, целью исследования являлось изучение влияния полиморфизма генов МТГФР на развитие ДН, то в данной работе были выделены группы пациентов с быстрым прогрессированием ДН (1-я группа) и больные СД с длительным течением заболевания, без ДН (2-я группа). Аллель Т677 и генотип Т/Т встречались в группе больных сахарным

Таблица 1

Группы обследуемых больных

Параметры	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Контроль
Количество	40	24	81	99
Ср. возраст	$26,8 \pm 8,8$	$35,6 \pm 13,9$	$32,7 \pm 12,1$	$40,4 \pm 0,9$
Мужчины	22	12	38	47
Ср. возраст мужчин	$25,9 \pm 9,1$	$31,8 \pm 14,8$	$34,6 \pm 10,7$	$39,5 \pm 1,4$
Женщины	18	12	43	52
Ср. возраст женщин	$27,9 \pm 8,6$	$39,5 \pm 12,4$	$31,2 \pm 13,6$	$41,3 \pm 1,2$

диабетом без ДН с медленным развитием осложнений в 41,2 и 23,5 % соответственно (табл. 3), что было несколько чаще, чем у больных с быстрым прогрессированием ДН. При сравнении с контрольными группами частота выявления мутантного аллеля Т677Т у больных сахарным диабетом 1 типа наблюдалась в 2–4 раза выше ($p = 0,016$). Тогда как, общее число мутации данного гена не отличалось от контрольных групп. В группе сравнения у больных сахарным диабетом типа 1 с классическим развитием ДН гомозиготная мутация определялась с меньшей частотой, однако, гетерозиготная мутация значительно преобладала.

Таким образом, у больных СД частота встречаемости мутантного гена МТГФР была выше, чем у лиц общей популяции, что может влиять на развитие у данной группы пациентов сосудистых заболеваний, таких как: атеросклеротическая болезнь, тромбоз коронарных, церебральных и периферических артерий. Однако результаты данного исследования показали, что полиморфизм данного гена не определял скорость развития осложнений СД.

У больных сахарным диабетом типа 1 исследовался уровень гомоцистеина, при этом отмечалось снижение данного показателя в сравнении с контрольной группой, средние значения у пациентов 1 группы составили $4,9 \pm 2,9$ $\mu\text{mol/l}$, во второй группе уровень гомоцистеина составил $5,5 \pm 3,1$ $\mu\text{mol/l}$,

в контрольной группе $11,6 \pm 3,7$ $\mu\text{mol/l}$. Невысокий уровень гомоцистеина у обследуемых больных может объясняться наличием гиперфилтрации, гепатоза и достаточным насыщением витамином В12 и фолиевой кислотой. Известно, что одной из причин гипергомоцистеинемии является генетический дефект фермента МТГФР, участвующего в метаболизме гомоцистеина. В данной ситуации проследить взаимосвязь гипергомоцистеинемии и полиморфизма гена МТГФР невозможно, однако, выявлено некоторое увеличение гомоцистеина при гомозиготной мутации Т677Т в обеих группах ($r = 0,28$, $p < 0,05$) (табл. 4).

Задачей исследования явилось также определение мутации гена eNOS3, участвующего в развитии сосудистых осложнений. В экзонах и интронах гена eNOS3 обнаруживают несколько полиморфных участков, в данном исследовании изучались два, а именно минисателлитный повтор в интроне 4 (eNOS4b/4a). Достоверного отличия при исследовании данного гена в исследуемых группах не найдено, что видно из таблицы 5.

В настоящее время в литературе нет достаточных данных о роли эндотелиальной NO-синтазы на развитие диабетических осложнений, в т.ч. ее влияние на скорость прогрессирования ДН. По данным О.Е. Воронько, Д.А. Чистякова, М.В. Шестаковой и соавт. (2000), ассоциация гена eNOS3 с развитием

Таблица 2
Распределение аллелей (%) и генотипов (n, %) МТГФР у больных с СД типа 1 и в общей популяции

Генетический маркер	Больные СД	Контроль	χ^2	p
Аллель С677, %	67,7	73,8	1,256	0,262
Аллель Т677, %	32,3	26,2	1,256	0,262
Генотип С677С, n (%)	37 (45,1)	44 (51,2)	0,395	0,529
Генотип С677Т, n (%)	37 (45,1)	39 (45,3)	0,016	0,900
Генотип Т677Т, n (%)	8 (9,8)	3 (3,5)	1,768	0,184

Таблица 3
Распределение аллелей (%) и генотипов (n, %) МТГФР в группах исследуемых больных

Ген. маркер	1 группа (СД типа 1, с ДН)	2 группа (СД типа 1, без ДН)	3 группа (СД типа 1 с классическим течением)	Контрольная группа (общая популяция)	χ^2	p
Аллель Т677, %	29,3	41,2	30,6	26,2	3,193	0,492
Аллель С677, %	70,7	58,8	69,4	73,8	3,193	0,492
Генотип С677С, n (%)	15 (51,7)	7 (41,2)	24 (41,6)	44 (51,2)	1,398	0,966
Генотип С677Т, n (%)	11 (37,9)	6 (35,3)	31 (55,6)	39 (45,3)	2,851	0,564
Генотип Т677Т, n (%)	3 (10,4)	4 (23,5)	4 (2,8)	3 (3,5)	10,847	0,016*

Таблица 4
Взаимосвязь полиморфизма гена МТГФР и уровня гомоцистеина

Генотип	Гомоцистеин, $\mu\text{mol/l}$ 1 группа	Гомоцистеин, $\mu\text{mol/l}$ 2 группа
МТГФР С677С	$4,1 \pm 1,7$	$4,5 \pm 1,9$
МТГФР С677Т	$4,3 \pm 1,9$	$4,6 \pm 4,4$
МТГФР Т677Т	$6,3 \pm 0,9$	$6,8 \pm 4,8$

Таблица 5

Распределение аллелей (%) и генотипов (n, %) минисателлитов eNOS4b/4a гена NOS3 в исследуемых группах

Ген. маркер	1 группа (СД типа 1, с ДН)	2 группа (СД типа 1, без ДН)	3 группа (СД типа 1)	Контрольная группа (общ. популяция)	χ^2	p
Аллель 4a, %	5,4	17,5	14,7	15,8	4,332	0,305
Аллель 4b, %	94,6	82,5	85,3	84,2	4,332	0,305
Генотип 4a/4a, n (%)	0 (0)	1 (5)	0 (0)	2 (2,6)	2,452	0,680
Генотип 4a/4b, n (%)	3 (10,7)	5 (25)	10 (29,4)	20 (26,3)	3,485	0,436
Генотип 4b/4b, n (%)	25 (89,3)	14 (70)	24 (70,6)	54 (71,1)	4,121	0,334

ДН не выявлена. В данном исследовании во всех исследуемых группах содержание аллеля 4b значительно превышало долю аллеля 4a, однако, частота встречаемости аллеля 4a в группах с медленным развитием и классическим течением ДН, а также в контрольной группе была в 3 раза выше, чем у больных с быстрым прогрессированием ДН. Во всех группах преобладал гомозиготный вариант гена eNOS3 4b/4b. Гетерозиготный генотип 4a/4b у больных с быстрым развитием ДН встречался реже, чем в других группах (10,7 %). В группах больных СД с быстрым прогрессированием ДН, а также классическим развитием ДН генотип 4a/4a ни у кого не выявлен. Таким образом, больные с быстрым развитием ДН отличались от других групп больных СД и контроля как снижением частоты встречаемости аллеля 4a (5,4 %), так и генотипа 4a/4b (10,4). Можно предположить, что такие особенности генотипа у больных с быстрым прогрессированием сосудистых осложнений могут повлиять на выработку NO эндотелием сосудов.

ВЫВОДЫ

1. У больных СД типа I выявлено преобладание мутации гена МТГФР, при этом в большей степени наблюдается гетерозиготная мутация гена, которая может приводить к развитию гипергомоцистеинемии и способствовать формированию различных сосудистых осложнений. Частота мутантного аллеля Т677 и гомозиготной мутации Т677Т у больных СД типа 1 наблюдается в 3 раза чаще, чем в общей популяции.
2. Не выявлена ассоциация мутации гена МТГФР с быстротой прогрессирования ДН.
3. При гомозиготной мутации гена МТГФР (Т677Т) обнаружены более высокие значения го-моцистеина в сыворотке крови больных СД типа I, чем без этой мутации.
4. В популяции больных СД типа I с быстрым прогрессированием ДН выявлено отсутствие ге-нотипа 4a/4a, снижена доля редкого аллеля 4a и ге-терозиготного генотипа 4a/4b, что может быть свя-зано со скоростью развития данного осложнения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анализ взаимосвязи полиморфизма С677Т гена метилентетрагидрофолатредуктазы с клиническими проявлениями коронарного атеросклероза /

М.Г. Спиридонова, В.А. Степанов, В.А. Пузырев // Генетика. — 2000. — Т. 36, № 9. — С. 1269—1273.

2. Ассоциация полиморфных генов маркеров генов-кандидатов с диабетической нефропатией у больных сахарным диабетом 1 типа / Н.М. Горашко, М.В. Шестакова, Д.А. Чистяков и др. // Сахарный диабет. — 2002. — № 1. — С. 38—43.

3. Балаболкин М.И. Роль окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений диабета (лекция) / М.И. Балаболкин, Е.М. Клебанова // Проблемы эндокринологии. — 2000. — Т. 46, № 6. — С. 29—34.

4. Баранов В.С. Гены «предрасположенности» и генетический паспорт / В.С. Баранов, М.В. Асеев, Е.В. Баранова // М: Природа, 1999. — № 3.

5. Бондарь И.А. Гипергомоцистеинемия: фактор риска сосудистых осложнений сахарного диабета / И.А. Бондарь, В.В. Климонтов // Проблемы эндокринологии. — 2004. — № 2. — С. 24—29.

6. Бондарь И.А. Оксид азота и диабетические ангиопатии / И.А. Бондарь, В.В. Климонтов, И.А. Поршеников // Сахарный диабет. — 1999. — № 4.

7. Генетические детерминанты наследственной тромбофилии в патогенезе венозного тромбоза / С.И. Капустин, М.Н. Блинов, В.Н. Каргин и др. // Терапевтический архив. — 2003. — № 10. — С. 78.

8. Дедов И.И. Диабетическая нефропатия / И.И. Дедов, М.В. Шестакова. — М.: Универсум Паблишинг. — 2000. — 239 с.

9. Кондратьева Е.И. Гены синтаз оксида азота (NOS) в патогенезе сахарного диабета / Е.И. Кондратьева, Е.Г. Косянкова // Проблемы эндокринологии. — 2002. — Т. 48, № 2. — С. 33—37.

10. Косянкова Т.В. Синтазы оксида азота: полиморфизм генов и сердечно-сосудистая патология / Т.В. Косянкова, К.В. Пузырев, И.А. Ковалев // Медицинская генетика. — 2003. — Т. 2, № 2. — С. 73—77.

11. Котельников М.В. Гипергомоцистеинемия: мост от теории к практике в лечении тромбофилий / М.В. Котельников // Кардиология. — 2004. — № 10. — С. 102—106.

12. Минушкина Л.О. Гены эндотелиальных факторов и артериальная гипертензия. — [Электронный ресурс]. — 2005.

13. Полиморфный минисателлит eNOS4a/4b в гене эндотелиальной NO — синтазы и сердечно-

сосудистые заболевания / О.Е. Воронько, Д.А. Чистяков, Ж.Д. Кобалава и др. // Молекулярная биология. — 2000. — Т. 34, № 5. — С. 875–877.

14. Полиморфизм гена эндотелиальной NO-синтазы и генетическая предрасположенность к нефропатии при сахарном диабете / О.Е. Воронько, Д.А. Чистяков, М.В. Шестакова и др. — [Электронный ресурс]. — 2000.

15. Полиморфизм гена эндотелиальной NO-синтазы и гипертрофия миокарда у больных артериальной гипертензией / Л.О. Минушкина,

Д.А. Затеищиков, А.А. Затеищикова и др. // Кардиология. — 2000. — № 3.

16. Сахарный диабет: ангиопатии и окислительный стресс / И.И. Дедов, М.И. Балаболкин, Г.Г. Мамаева и др. — М., 2003. — 86 с.

17. Спиридонова М.Г. О роли полиморфных вариантов гена 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний / М.Г. Спиридонова, В.А. Степанов, В.П. Пузырев // Клиническая медицина. — 2001. — № 2. — С. 10–16.