

УДК 616.839-008-02:616.379-008.64]-036.1-07:575

DOI: 10.22141/2224-0721.14.4.2018.140196

Зорій І.А., Пашковська Н.В.

 Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет»,
 м. Чернівці, Україна

Роль генетичних чинників у розвитку діабетичної дистальної симетричної полінейропатії (огляд літератури та власні дослідження)

For cite: Mižnarodnij endokrinologičnij žurnal. 2018;14(4):395-401. doi: 10.22141/2224-0721.14.4.2018.140196

Резюме. У статті подані дані огляду літератури та власні спостереження з питання вивчення ролі генетичних чинників у ризику розвитку та прогресування тяжких ускладнень діабетичної дистальної симетричної полінейропатії. Встановлено, що у хворих із дистальною симетричною полінейропатією на тлі цукрового діабету типу 2 відзначається асоціація гомозиготного генотипу ТТ поліморфізму G894T гена ендотеліальної NO-синтази з вірогідно вираженими ознаками суб'єктивної симптоматики, наявністю аксонального ураження моторних нервів за електронейроміографічними параметрами, із зростанням рівня глікованого гемоглобіну, а також зі збільшенням вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів.

Ключові слова: цукровий діабет типу 2; дистальна симетрична полінейропатія; генетичні чинники; поліморфізм G894T гена ендотеліальної NO-синтази; огляд

Вступ

Цукровий діабет (ЦД) у всьому світі є одним із поширених хронічних захворювань та глобальною медичною соціальною й економічною проблемою сучасності, в основному через осіб, які страждають від ЦД типу 2 [1].

Діабетична нейропатія, що є найбільш тяжким та інвалідизуючим ускладненням ЦД, якому піддаються пацієнти як з першим, так і з другим типом захворювання, у наш час перетворилася на мультидисциплінарну проблему, яка близька не лише ендокринологам, а й неврологам, а також хірургам. При цьому йдеться насамперед про периферичну форму діабетичної нейропатії, яка набагато більшою мірою, ніж центральна нейропатія, знижує якість життя хворих і погіршує перебіг ЦД.

Оцінка поширеності діабетичної дистальної симетричної полінейропатії (ДСПН) серед хворих на ЦД типу 2 широко варіює в різних дослідженнях (понад 50 % у Рочестерському дослідженні та менше 30 % у дослідженнях індійської популяції) [2, 3]. Така велика різноманітність отриманих результатів може бути зумовлена використанням різних діагностичних критеріїв, особливо якщо не засто-

совувались електронейрофізіологічні, що дозволяють виявляти субклінічну форму ДСПН. У такому разі слід орієнтуватися тільки на дані досліджень, в яких використовувалися міжнародні критерії діагностики ДСПН, що обов'язково включають результати електронейроміографічного (ЕНМГ) тестування [4–6].

З іншого боку, не можна виключити зв'язок великої варіабельності поширеності ДСПН у різних популяціях хворих на ЦД із впливом генетичних факторів, які «призводять» до розвитку ДСПН або, навпаки, «захищають» від її формування. Про роль генетичних факторів свідчить і кластерний феномен діабетичної полінейропатії, коли розвиток цього пізнього ускладнення в одного члена сім'ї, який хворіє на ЦД, призводить до зростання ризику його розвитку в інших членів сім'ї від 20 до 80 % [7].

Низка клінічних досліджень свідчить про те, що розвиток діабетичної нейропатії визначається не тільки тривалістю й якістю контролю ЦД, тобто рівнем його компенсації, а й генетичними факторами. На користь останніх свідчить розвиток ДСПН у деяких хворих у дуже короткі терміни після маніфестації ЦД, в той час як у багатьох хворих і після 20 ро-

ків перебігу ЦД не вдається виявити ані субклінічну, ані симптомну форму ДСПН [8].

Вираженим маркером наявності генетичної схильності до будь-якого захворювання є етнічна залежність до її формування. Відомо, що поширеність ДСПН значно відрізняється між етнічними групами. У Росії та США поширеність даного ускладнення у популяції хворих на ЦД становить понад 50 %, а у жителів Індійського субконтиненту — менше 10 %. Це підтвердили дослідження поширеності діабетичної нейропатії у популяції хворих на ЦД, які живуть на острові Маврикій, де основним населенням є індуси [9, 10].

Останніми роками в літературі широко обговорюється генетичний ризик розвитку ЦД та його ускладнень залежно від генів інсулінорезистентності, генів, які визначають знижений рівень інсуліну, поліморфізму гена ангіотензин-І-перетворюючого ферменту (ACE), гена ендотеліальної NO-синтази (eNOS) у пацієнтів з обома типами ЦД [18, 30, 40].

Встановлена асоціація з ДСПН при ЦД типу 1 та поліморфними маркерами декількох генів-кандидатів, а саме гени, які кодують білок p53 (TP53), пероксидази глутатіону-3 (GPX3), β3-субодиницю G-білка (GNB3), переносник АТФ/АДФ 1-го типу (ANT1), хеліказим тДНК (PEO1), ДНК-полімераза гамма-1 (POLG1) та полі(АДФ-рибоза)-полімераза (ADPRT1) у росіян (м. Москва) [1, 8].

Генетичні чинники ризику розвитку ДСПН вивчені також у багатьох дослідженнях, які показали вірогідні асоціативні зв'язки терміну розвитку діабетичної полінейропатії з поліморфізмом генів SOD2 (мітохондріальна супероксиддисмутаза), SOD3 (ендотеліальна супероксиддисмутаза) і PARP (регенеративних полімераз, що активуються руйнуванням ДНК мітохондрій вільним радикалом супероксидом) [32].

Відомо, що поліморфізм генів, які детермінують функціональний стан ендотелію, є причиною схильності організму до розвитку різних патологічних станів, у першу чергу до ангіопатій. В основі ендотеліальної дисфункції як одного з факторів розвитку діабетичної нейропатії лежить дисбаланс між локальним синтезом і розпадом вазоактивних речовин, з-поміж яких виділяють монооксид нітрогену (NO) [7]. Ендотеліальна NO-синтаза (eNOS) у клітинах ендотелію підвищує продукцію NO і циклічний гуанозин-3',5'-монофосфат (цГМФ) у

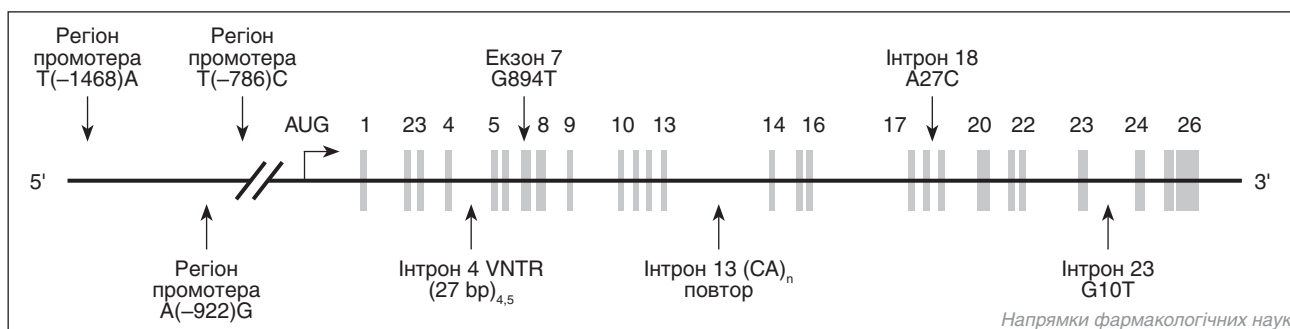
гладком'язових клітинах, знижуючи ефект вазоконстрикції, викликаний фенілефрином, і забезпечує ендотелій-залежну релаксацію у відповідь на ацетилхолін [31]. NO ендотеліального походження є важливим атеропротекторним медіатором. NO-синтазу слід розглядати як складний ферментний комплекс, що синтезує високоактивні сполуки залежно від функціонального стану клітини. У зв'язку з цим процеси регуляції синтезу NO і ген, що кодує eNOS, є першочерговими кандидатами при дослідженні ендотеліальної дисфункції судин [35, 44].

Ген eNOS, виділений у 1993 році, локалізований у хромосомі 7q35-36. Займаючи інтервал 4,4 Кб геннової ДНК, він складається з 26 екзонів, які кодують 135-кДа білка, що містить 1203 амінокислоти. Матрична РНК гена eNOS кодується 4052 нуклеотидами. Послідовності у 5'-фланкуючій ділянці гена представлена численними потенційними цис-регуляторними послідовностями ДНК: Sp1, GATA, AP-1, NF-1, елементом, що відповідає за напруження зміщення (shear stress), і елементом, що відповідає за регуляцію стеролу [45, 50, 55]. Прогрес у розумінні молекулярних механізмів, залучених у конститутивну та регульовану експресію мРНК гена eNOS, забезпечує нові підходи до вивчення ендотеліальної генної регуляції в нормі та при патології [20].

Ген, що кодує eNOS, має алейний поліморфізм, який асоційований з різною активністю вироблення NO [51]. У гені eNOS виявлено кілька поліморфних сайтів (рис. 1), з яких найбільший інтерес становить структурна заміна в 7-му екзоні 894G>T. Точкова заміна гуаніну на тимін у позиції 894 в 7-му екзоні (GAG на GAT) гена eNOS призводить до зміни амінокислотної послідовності білка: глутамін у позиції 298 змінюється на аргінін (Glu298Asp) [25, 36, 39].

Деякі дослідники пов'язують поліморфізм Glu-298Asp (rs1799983) гена eNOS з дозозалежним зниженням ферментативної активності eNOS і зниженням продукції NO. Гомозиготи Asp/Asp характеризуються більш низькою активністю eNOS порівняно з генотипом Glu/Glu. Іншим можливим механізмом впливу цього поліморфізму на рівень/активність eNOS може бути його нерівноважне зчеплення з ще не встановленими функціональними варіантами гена eNOS [39].

Численними дослідженнями встановлено, що ендотелій-залежна вазодилатація у разі наявності алелі 298Asp (T894) ушкоджується, і цей тип полі-



Напрямки фармакологічних наук

Рисунок 1. Поліморфні варіанти гена ендотеліальної NO-синтази

морфізму пов'язаний з ішемічною хворобою серця (ІХС) і гіпертензією та є предиктором атеросклерозу каротидної артерії [10, 12, 16, 38]. Отже, була встановлена асоціація цього типу поліморфізму з атеросклерозом коронарних артерій, яка не залежала від інших факторів ризику. Крім того, авторами було досліджено зв'язок між основним ефектором ренін-ангіотензинової системи ангіотензином II і алельним поліморфізмом G894T гена eNOS. У зв'язку з цим проведені дослідження поєданого впливу поширеного поліморфізму інсерція/делеція гена ангіотензинперетворюючого ферменту і алелі 894T гена eNOS на розвиток дисфункції ендотелію, гіпертензії, атеросклерозу, нефропатії [13, 46, 53].

Окремі дослідження показали, що T894G та 4b/ поліморфізм гена eNOS пов'язаний із захворюваністю на ЦД типу 2 і схильністю до розвитку тяжких діабетичних нефропатій у жителів Східної Азії [42]. Зміни в експресії гена eNOS можуть бути чинником генетичної схильності до розвитку ішемічної зорової нейропатії [28], діабетичної ретинопатії при ЦД типу 1 [27]. Простежується зв'язок між генами eNOS та ангіотензинперетворюючого ферменту та визначена їх роль у підвищенні схильності до захворювання периферичних артерій у курців. Таким чином, надаються докази взаємодії генів і навколишнього середовища, способу життя та шкідливих звичок у моделюванні схильності до розвитку захворювання [15, 18].

S. Frank et al. [21] досліджували вплив поліморфізму гена eNOS на толерантність до глюкози на тлі фізичного навантаження в осіб із діабетом ($n = 461$) та у контрольній групі ($n = 474$) в американців та іспанців європейського походження з порушенням толерантності до глюкози. Дослідження не підтвердило, що варіанти гена eNOS впливають на ризик виникнення діабету, толерантності до глюкози, і модифікують зв'язок між витратами енергії та толерантністю до глюкози. Для значної частини популяційних досліджень, що аналізують зв'язок між поліморфізмом гена eNOS і толерантністю до глюкози при ЦД типу 2, встановлено зв'язок між поліморфізмом даного гена і гіпертензією, нефропатією, ретинопатією та ІХС [24, 26, 51, 52].

Про генетику ускладнень ЦД і поліморфних варіантів гена ендотеліальної NO-синтази, а саме поліморфізму G894T, існують суперечливі результати. Поширеність мутації Glu298Asp варіює в різних етнічних групах. Так, при дослідженні однонуклеотидного поліморфізму G894T гена eNOS серед населення Південної Індії виявлено взаємозв'язок патологічних генотипів з розвитком ЦД типу 2: з'ясовано, що у хворих наявність мутантних генотипів (GT/TT) спостерігалася у 7,2 рази (95% довірчий інтервал (CI) = 4,09–12,71) частіше, ніж у контролі [34, 41, 48]. При дослідженні генотипів eNOS у турецького населення з діабетичними судинними ускладненнями виявлено, що між генотипами контролю та хворими ЦД типу 2 не було суттєвих відмінностей у співвідношенні алелей G894T гена eNOS. Між групами з ускладненнями діабету та без

таких значне розходження було знайдено тільки в розподілі алелей у пацієнтів із супутньою атеросклеротичною хворобою серця, чиї GT-ТТ алелі були значно вище, ніж алелі GG ($p = 0,004$) [17].

Беручи до уваги фізіологічну роль eNOS і дані попередніх досліджень, ми припустили, що вивчення розподілу частот генотипів поліморфізму G894T гена eNOS у хворих із ДСПН на тлі ЦД типу 2 дасть можливість уточнити патогенетичні механізми розвитку захворювання, а у подальшому молекулярно-генетичні дані можуть бути корисні для обґрунтування тактики ведення хворих на дану патологію.

Матеріали та методи

Обстежено 110 хворих із ДСПН на тлі ЦД типу 2, що становили основну групу. Середній вік хворих — 54,2 року (від 38 до 72 років). Чоловіків було 62 особи, жінок — 48 осіб. Групу порівняння становили 80 практично здорових осіб віком від 32 до 56 років, зокрема 36 чоловіків і 44 жінок. Розподіл хворих здійснювався за ступенем тяжкості ДСПН: з початковими проявами ДСПН — 32 (29,1 %) пацієнти (перша група), з помірним ступенем — 58 (52,7 %) (друга група) та з вираженим ступенем ДСПН — 20 (18,2 %) (третья група) хворих.

Усім пацієнтам проводилося неврологічне обстеження за шкалами нейропатичного симптоматичного розрахунку (NSS) [22] та нейропатичного дисфункціонального розрахунку (NDS) [5]. Електроенцефалографічне (ЕНМГ) обстеження здійснювалося на комп'ютеризованому програмному комплексі M-TEST («DX-системи», Україна), при цьому вивчали: амплітуду потенціалів максимальної рухової відповіді (М-відповідь), швидкість проведення збудження (ШПЗ), резидуальну латентність (мс) при дослідженні малогомілкового та великогомілкового нервів [19].

Рівень глікемії досліджували глюкозооксидазним методом з використанням стандартних наборів реактивів виробництва НВП «Філісідіагностика» (Україна). Глікований гемоглобін (HbA1c) визначали методом рідинної іонообмінної хроматографії високого тиску на автоматичному аналізаторі глікованого гемоглобіну D10 фірми Bio-Rad Laboratories Inc. (Франція). Рівень імунореактивного інсуліну (ІРІ) і С-пептиду встановлювали за імуноферментним методом на аналізаторі STAT Fax Plus-303 (США) з використанням реактивів фірми DRG International Inc. (США).

Ступінь інсулінорезистентності встановлювали за індексом інсулінорезистентності HOMA-IR з використанням програми HOMA Calculator Version 2.2 Diabetes Trials Unit University of Oxford (Великобританія). Критичним вважалося значення вище 2,0.

Для оцінки активності окиснювальних процесів визначали вміст продуктів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), а саме за рівнем малонового альдегіду (МА) у плазмі крові та еритроцитах, відновленого глутатіону (Г-SH). Стан системи антиоксидантного захисту (АОЗ) аналізували за визначенням активності каталази (КАТ) та глутатіонпероксидази (ГП). [4]

Функціональний стан ендотелію досліджували за вмістом у крові стабільних метаболітів монооксиду нітрогену (NO) та кількістю циркулюючих у крові злущених ендотеліоцитів. При цьому кількість циркулюючих у крові ендотеліоцитів визначалася за методом J. Hladovec у модифікації Н.Н. Петришева та співавт. Уміст у крові стабільних метаболітів NO (нітритів, нітратів) досліджували за вмістом нітрит-аніону (NO^{2-}) та сумою NO^{2-} та нітрат-аніону (NO^{3-}) в сироватці венозної крові фотоколориметричним методом за L.C. Green et al. [11].

ДНК виділяли з клітин крові за допомогою набору «ДНК-сорб-В» («АмпліСенс», Росія). Детекцію поліморфізму G894T у гені eNOS проводили методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Альтернативний поліморфізм визначали ампліфікацією гена з подальшою рестрикцією рестриктазою Eco24I. Фрагменти ампліфікованої ДНК розділяли методом гель-електрофорезу. Візуалізація ДНК проводилася за допомогою ультрафіолетового (УФ) випромінювача. Підбір праймерів для ампліфікації та наступного секвенсу, а також аналіз ПЛР здійснювався відповідно до загальноприйнятих світових методик [3].

Статистична обробка проводилася з використанням прикладних програми MS® Excel® 2003™, Biostat®, Statistika® 6. Вірогідність отриманих даних вираховували методом парного тесту із застосуванням t-критерію Стюдента. Вірогідну відмінність у розподілі вибірок визначали за критерієм χ^2 . Значення $p < 0,05$ вважали вірогідним.

Результати

За даними нашого дослідження встановлено, що генетично зумовлений ризик появи виражених ознак ДСПН у хворих на ЦД типу 2 ($p \leq 0,05$) асоційований із наявністю гомозиготного генотипу за рідкісною алеллю T гена eNOS, оскільки у більшості хворих із даним генотипом спостерігали виражений ступінь тяжкості ДСПН ($\chi^2 = 4,568$; $p = 0,033$). Окрім того, частота мінорної T алелі в основній групі обстежених була вищою (47,2%) проти групи порівняння (36,9 %). У зв'язку з тим, що гетерозиготний генотип GT гена eNOS майже утричі рідше трапляється у хворих із тяжким ступенем ДСПН порівняно з контролем, хворі на ЦД типу 2 із таким генотипом мають найбільш сприятливий прогноз щодо уникнення розвитку синдрому діабетичної стопи.

При порівнянні клінічних, біохімічних і функціональних показників у хворих на ЦД 2-го типу, ускладнений ДСПН, стратифікованих за поліморфізмом G894T гена eNOS, встановлено асоціацію суб'єктивної та деякою мірою з об'єктивною симптоматикою при ДСПН із гомозиготним генотипом TT за рідкісною алеллю. Крім того, у хворих із цим генотипом зареєстровано найсуттєвіші ЕНМГ-ознаки аксонопатії, що вірогідно відрізнялися порівняно з носіями гетерозиготного генотипу.

Аналізуючи літературні джерела, ми знайшли окремі повідомлення про роль гена eNOS у розвитку та прогресуванні діабетичної полінейропатії, що перекликаються з нашими результатами. У дослідженні,

в якому вивчали поліморфізм G894T гена eNOS у хворих на ЦД типу 2, ускладнений ДСПН, виявлена асоціація G894T варіанта гена eNOS з прогресуванням діабетичної нейропатії та серцево-судинними захворюваннями. Встановлено, що даний поліморфізм може моделювати перебіг і тяжкість діабетичної нейропатії [17]. У дослідженнях, проведених у населення Південної Індії, було визначено, що поява мутантного генотипу (eNOS-894 GT/TT) була вищою (75 %) у хворих на ЦД типу 2 порівняно з контрольною групою (29,37 %) [25]. Аналогічне дослідження, проведене Монті [29], який описав істотний зв'язок між поліморфізмом гена eNOS і ЦД типу 2, припускаючи, що даний поліморфізм є фактором генетичної схильності для гіперінсулінемії, резистентності до інсуліну, і ЦД типу 2. П'ятирічним проспективним дослідженням, проведеним серед китайського населення, визначено, що поліморфізм G894T гена eNOS може бути прогностичним маркером стійкої гіперглікемії у пацієнтів із порушеною толерантністю до глюкози [23].

Обговорення

За нашими результатами, виявлено асоціацію гомозиготного генотипу TT за рідкісною алеллю гена eNOS з показниками вуглеводного обміну, а саме рівнем HbA1c ($p \leq 0,05$). Окрім того, спостерігалися дещо вищі рівні IPI та індексу інсулінорезистентності HOMA-IR у носіїв даного генотипу, однак ці значення були статистично невірогідні порівняно з носіями інших генотипів, що може вказувати на ймовірний зв'язок даного поліморфізму гена eNOS з розвитком гіперглікемії та інсулінорезистентності.

NO, що синтезується eNOS, є учасником практично всіх метаболічних і фізіологічних процесів, відіграючи роль універсального регулятора. Особливий інтерес становить здатність NO і його похідних впливати на синтез низки найважливіших білків і ферментів як на рівні транскрипції, так і на рівні трансляції. Роль NO як модулятора фізіологічної секреції інсуліну була ретельно вивчена у дослідженнях G. Spinas [49]. NO має здатність модулювати периферичний і печінковий метаболізм глюкози та секрецію інсуліну. Отже, генетичний дефект у eNOS може відігравати вирішальну роль в еволюції гіперінсулінемії та інсулінорезистентності, як це було запропоновано раніше.

Водночас патогенетична роль ендогенного NO при ЦД, ускладненому ДСПН, визначається з двох точок зору: як фактора, що бере участь в індукції самого захворювання, так і фактора, аномальне зниження якого відіграє визначальну роль у формуванні ангіопатії. За даними наших досліджень, рівень NO^{2-} — NO^{3-} у носіїв гетерозиготного генотипу та генотипу GG вірогідно не відрізнявся порівняно з практично здоровими особами, однак у 19,3 % пацієнтів із генотипом GT та у 5 (20,0 %) осіб із генотипом GG рівень NO був підвищений внаслідок активності iNOS. У хворих із гомозиготним генотипом TT цей показник у 1,7 раза ($p < 0,05$) був нижчим порівняно з контролем, однак вірогідно не різнився

порівняно з носіями інших генотипів. Отже, за нашими даними, не встановлена асоціація показників рівнів NO з алельними варіантами гена eNOS, проте у хворих із гомозиготним генотипом TT за мінорною алеллю рівні стабільних метаболітів монооксиду нітрогену були найнижчими.

При аналізі показників про- та антиоксидантних систем крові в обстежених нами пацієнтів залежно від розподілу частот генотипів G894T поліморфізму гена eNOS встановлена асоціація гомозиготного генотипу TT із збільшенням умісту продуктів ПОЛ, а саме МАпл. крові ($p \leq 0,05$), рівень якого вірогідно зростає у хворих на ДСПН із даним генотипом. Показники активності антиоксидантного захисту у носіїв всіх генотипів були нижчими за нормативне значення, проте між групами різниці не спостерігали. Проведені нами дослідження відрізнялися від інших нечисленних літературних даних, під час яких встановлено, що показники пероксидного окиснення (МА) і активність ензимів антиоксидантного захисту (СОД та глутатіон-редуктази) у хворих із різними генотипами гена eNOS (G894T-поліморфізм) не мали вірогідних відмінностей [2].

Висновки

Частота розвитку та особливості перебігу діабетичної полінейропатії детерміновані генетичними чинниками. У хворих із дистальною симетричною полінейропатією на тлі ЦД типу 2 має місце асоціація гомозиготного генотипу TT поліморфізму G894T гена ендотеліальної NO-синтази з вірогідно вираженими ознаками суб'єктивної симптоматики, наявністю аксонального ураження моторних нервів за даними нейрофізіологічного дослідження периферичних нервів, із зростанням рівня глікозильованого гемоглобіну, а також із збільшенням умісту продуктів ПОЛ. Отже, гомозиготність за мінорною алеллю підвищує ймовірність ризику розвитку діабетичної полінейропатії та її тяжких ускладнень, таких як синдром діабетичної стопи.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів при підготовці даної статті.

References

1. Wilson N, Wright D. Inflammatory mediators in diabetic neuropathy. *J Diabetes Metab.* 2011;55:004. doi: 004.10.4172/2155-6156.S5-004.
2. Tesfaye S, Boulton AJM, Dyck PJ, et al. Diabetic neuropathies: update on definitions, diagnostic criteria, estimation of severity, and treatments. *Diabetes Care.* 2010 Oct;33(10):2285-93. doi: 10.2337/dc10-1303.
3. Vinik AI, Maser RE, Ziegler D. Neuropathy: the crystal ball for cardiovascular disease? *Diabetes Care.* 2010 Jul;33(7):1688-90. doi: 10.2337/dc10-0745.
4. Ciccacci C, Di Fusco D, Cacciotti L, et al. TCF7L2 gene polymorphisms and type 2 diabetes: association with diabetic retinopathy and cardiovascular autonomic neuropathy. *Acta Diabetol.* 2013 Oct;50(5):789-99. doi: 10.1007/s00592-012-0418-x.
5. Osztoivits J, Horváth T, Littvay L, et al. Effects of genetic vs. environmental factors on cardiovascular autonomic function: a twin study. *Diabet Med.* 2011 Oct;28(10):1241-8. doi: 10.1111/j.1464-5491.2011.03363.x.
6. Basile KJ, Johnson ME, Xia Q, Grant SF. Genetic susceptibility to type 2 diabetes and obesity: follow-up of findings from genome-wide association studies. *Int J Endocrinol.* 2014;2014:769671. doi: 10.1155/2014/769671.
7. Dimitropoulos G, Tahrani AA, Stevens MJ. Cardiac autonomic neuropathy in patients with diabetes mellitus. *World J Diabetes.* 2014 Feb 15;5(1):17-39. doi: 10.4239/wjcd.v5.i1.17.
8. Kota S, Meher L, Jammula S, Modi K. Diabetic peripheral neuropathy-recent trends and future perspectives in management. *International Journal of Clinical Case Reports.* 2012;4(2):44-59.
9. Tesfaye S, Selvarajah D. Advances in the epidemiology, pathogenesis and management of diabetic peripheral neuropathy. *Diabetes Metab Res Rev.* 2012 Feb;28 Suppl 1:8-14. doi: 10.1002/dmrr.2239.
10. Min BW, Na JY, Juhng SW, Park MS, Park JT, Kim HS. A polymorphism (T894G) in eNOS increases the risk of coronary atherosclerosis rather than intracranial atherosclerosis in Koreans. *Acta Neurol Belg.* 2010 Sep;110(3):255-62.
11. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite and [15N] nitrate in biological fluids. *Anal Biochem.* 1982 Oct;126(1):131-8.
12. Tian GX1, Zeng XT, Wang XB, Zhang L, Zhang W, Wei WL. Association between the endothelial nitric oxide synthase gene Glu298Asp polymorphism and coronary heart disease: a meta-analysis of 39 case-control studies. *Mol Med Rep.* 2013 Apr;7(4):1310-8. doi: 10.3892/mmr.2013.1301.
13. Jira M, Závodná E, Honzíkova N, et al. Association of eNOS Gene Polymorphisms T-786C and G894T With Blood Pressure Variability in Man. *Physiol Res.* 2011;60(1):193-7.
14. Nosikov VV, Stokov IA, Nikitin AG, Burdenny AM, Albekova ZS, Melnichenko GA. Association of gene with diabetic polyneuropathy in Russian patients with type 1 diabetes. In: *20th Annual Meeting of Diabetic Neuropathy Study Group of the EASD.* Stockholm, Sweden, 2010.
15. Conen D, Glynn RJ, Buring JE, Ridker PM, Zee RY. Association of renin-angiotensin and endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms with blood pressure progression and incident hypertension: prospective cohort study. *J Hypertens.* 2008 Sep;26(9):1780-6. doi: 10.1097/HJH.0b013e3283077eef.
16. Li YY, Zhai ZG, Yang YH, et al. Association of the 894G>T polymorphism in the endothelial nitric oxide synthase gene with risk of venous thromboembolism in Chinese population. *Thromb Res.* 2011 Apr;127(4):324-7. doi: 10.1016/j.thromres.2010.11.034.
17. Corapcioglu D, Sahin M, Emral R, Celebi ZK, Sener O, Gedik VT. Association of the G894T Polymorphism of the Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene with Diabetic Foot Syndrome Foot Ulcer, Diabetic Complications, and Comorbid Vascular Diseases: A Turkish Case-Control Study. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2010 Aug;14(4):483-8. doi: 10.1089/gmb.2010.0023.
18. Li X, An J, Guo R, et al. Association of the genetic polymorphisms of the ACE gene and the eNOS gene with lupus nephropathy in northern Chinese population. *BMC Med Genet.* 2010 Jun 14;11:94. doi: 10.1186/1471-2350-11-94.
19. Butugan MK, Sartor CD, Watari R, et al. Multichannel EMG-based estimation of fiber conduction velocity during isometric contraction of patients with different stages of diabetic neuropathy. *J Electromyogr Kinesiol.* 2014 Aug;24(4):465-72. doi: 10.1016/j.jelekin.2014.04.007.
20. Cho YK, Yun JW, Park JH, et al. Deleterious effects of silymarin on the expression of genes controlling endothelial nitric oxide synthase activity in carbon tetrachloride-treated rat livers. *Life Sci.* 2009 Aug 12;85(7-8):281-90. doi: 10.1016/j.lfs.2009.06.001.
21. Frank S, Stallmeyer B, Kämpfer H, Schaffner C,

- Pfeilschifter J. Differential regulation of vascular endothelial growth factor and its receptor *fms*-like-tyrosine kinase is mediated by nitric oxide in rat renal mesangial cells. *Biochem J*. 1999 Mar 1;338 (Pt 2):367-74.
22. Dyck PJ. Detection, characterization, and staging of polyneuropathy: assessed in diabetics. *Muscle Nerve*. 1988 Jan;11(1):21-32. doi: 10.1002/mus.880110106.
23. Tso AW, Tan KC, Wat NM, Janus ED, Lam TH, S L Lam K. Endothelial nitric oxide synthase G894T (Glu298Asp) polymorphism was predictive of glycemic status in a 5-year prospective study of Chinese subjects with impaired glucose tolerance. *Metabolism*. 2006 Sep;55(9):1155-8. DOI: 10.1016/j.metabol.2006.04.012.
24. Ahluwalia TS, Ahuja M, Rai TS, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene haplotypes and diabetic nephropathy among Asian Indians. *Mol Cell Biochem*. 2008 Jul;314(1-2):9-17. doi: 10.1007/s11010-008-9759-8.
25. Angeline T, Krithiga HR, Isabel W, Asirvatham AJ, Poornima A. Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphism (G894T) and Diabetes Mellitus (Type II) among South Indians. *Oxid Med Cell Longev*. 2011;2011:462607. doi: 10.1155/2011/462607.
26. Cheema BS, Kohli HS, Sharma R, Bhansali A, Khullar M. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism and type 2 diabetic retinopathy among Asian Indians. *Acta Diabetol*. 2012 Dec;49(6):481-8. doi: 10.1007/s00592-012-0437-7.
27. Yanamandra K, Napper D, Pramanik A, Bocchini JA Jr, Dhanireddy R. Endothelial nitric oxide synthase genotypes in the etiology of retinopathy of prematurity in premature infants. *Ophthalmic Genet*. 2010 Dec;31(4):173-7. doi: 10.3109/13816810.2010.497528.
28. Giannopoulos S, Markoula S, Asproudis I, et al. Endothelial nitric oxide synthase polymorphism (T894G) and nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy. *Vis Neurosci*. 2010 Nov;27(5-6):183-5. doi: 10.1017/S0952523810000350.
29. Monti LD, Barlassina C, Citterio L, et al. Endothelial nitric oxide synthase polymorphisms are associated with type 2 diabetes and the insulin resistance syndrome. *Diabetes*. 2003 May;52(5):1270-5.
30. Sticchi E, Sofi F, Romagnuolo I, et al. eNOS and ACE genes influence peripheral arterial disease predisposition in smokers. *J Vasc Surg*. 2010 Jul;52(1):97-102.e1. doi: 10.1016/j.jvs.2010.02.021.
31. Forstermann U, Sessa W. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J*. 2012 Apr;33(7):829-37, 837a-837d. doi: 10.1093/eurheartj/ehr304.
32. Flekac M, Skrha J, Hilgertova J, Lacinova Z, Jarolimkova M. Gene polymorphisms of superoxide dismutases and catalase in diabetes mellitus. *BMC Med Genet*. 2008 Apr 21;9:30. doi: 10.1186/1471-2350-9-30.
33. Pezzolesi MG, Poznik GD, Mychaleckyj JC, et al. Genome-wide association scan for diabetic nephropathy susceptibility genes in type 1 diabetes. *Diabetes*. 2009 Jun;58(6):1403-10. doi: 10.2337/db08-1514.
34. Heltianu C, Guja C, Manea SA. Genetic determinants of microvascular complications in type 1 diabetes. In: Wagner D, editor. *Type 1 Diabetes Pathogenesis, Genetics and Immunotherapy*. InTech; 2011.
35. Huizinga M, Peltier A. Painful Diabetic Neuropathy: A Management-Centred Review. *Clinical Diabetes*. 2007;25(1):6-15. doi: 10.2337/diaclin.25.1.6.
36. Ritt M, Ott C, Delles C, Schneider MP, Schmieder RE. Impact of the endothelial nitric oxide synthase gene *g894t* polymorphism on renal endothelial function in patients with type 2 diabetes. *Pharmacogenet Genomics*. 2008 Aug;18(8):699-707. doi: 10.1097/FPC.0b013e32830500b1.
37. International Diabetes Federation (IDF). *Diabetes Atlas*. 7th ed. 2015. Available from: <https://www.idf.org/e-library/epidemiology-research/diabetes-atlas/13-diabetes-atlas-seventh-edition.html>.
38. Jude EB. Effect of L-arginine on the microcirculation in the neuropathic diabetic foot in Type 2 diabetes mellitus: a double-blind, placebo-controlled study. *Diabet Med*. 2010 Jan;27(1):113-6. doi: 10.1111/j.1464-5491.2009.02876.x.
39. Mathew J, Narayanan P, Sundaram R, et al. Lack of association between Glu(298) asp polymorphism of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene and coronary artery disease in Tamilian population. *Indian Heart J*. 2008 May-Jun;60(3):223-7.
40. Marchesi C, Paradis P, Schiffrin EL. Role of the renin-angiotensin system in vascular inflammation. *Trends Pharmacol Sci*. 2008 Jul;29(7):367-74. doi: 10.1016/j.tips.2008.05.003.
41. Nishevitha NS, Angeline T, Jeyaraj N. Endothelial nitric oxide synthase (eNOS) Glu298→Asp polymorphism (G894T) among South Indians. *Indian J Med Res*. 2009 Jan;129(1):68-71.
42. He Y, Fan Z, Zhang J, et al. Polymorphisms of eNOS gene are associated with diabetic nephropathy: a meta-analysis. *Mutagenesis*. 2011 Mar;26(2):339-49. doi: 10.1093/mutage/geq100.
43. Poncelet AN. Diabetic polyneuropathy: risk factors, clinical picture, diagnostics and treatment. *Geriatrics*. 2003 Jun;58(6):16-8, 24-5, 30.
44. McMurry JL, Chrestensen CA, Scott IM, et al. Rate, affinity and calcium dependence of nitric oxide synthase isoform binding to the primary physiological regulator calmodulin. *FEBS J*. 2011 Dec;278(24):4943-54. doi: 10.1111/j.1742-4658.2011.08395.x.
45. Niu PP, Yang G, Zheng BK, Guo ZN, Jin H, Yang Y. Relationship between endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and ischemic stroke: A meta-analysis. *Acta Neurol Scand*. 2013 Sep;128(3):202-12. doi: 10.1111/ane.12120.
46. Goligorsky MSI, Kuo MC, Patschan D, Verhaar MC. Review article: endothelial progenitor cells in renal disease. *Nephrology (Carlton)*. 2009 Apr;14(3):291-7.
47. Gómez-Viera N, Soto-Lavastida A, Roselló-Silva H, Gómez de Molina-Iglesias M. Risk factors involved in symmetrical distal diabetic neuropathy. *Rev Neurol*. 2001 May 1-15;32(9):806-12.
48. Shah VN, Cheema BS, Kohli HS. Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphism and the Risk of Diabetic Neuropathy in Asian Indian Patients with Type 2 Diabetes. *J Diabetes Metab*. 2013;4:243. doi: 10.4172/2155-6156.1000243.
49. Spinass G. The dual role of nitric oxide in islet beta-cells. *News Physiol Sci*. 1999 Apr;14:49-54.
50. Möllsten A, Lajer M, Jorsal A, Tarnow L. The endothelial nitric oxide synthase gene and risk of diabetic nephropathy and development of cardiovascular disease in type 1 diabetes. *Mol Genet Metab*. 2009 May;97(1):80-4. doi: 10.1016/j.ymgme.2009.01.013.
51. Li J, Wu X, Li X, Feng G, He L, Shi Y. The endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary artery disease: a meta-analysis. *Cardiology*. 2010;116(4):271-8. doi: 10.1159/000316063.
52. Xin Y, Song X, Xue H, et al. A common variant of the eNOS gene (E298D) is an independent risk factor for left ventricular hypertrophy in human essential hypertension. *Clin Sci (Lond)*. 2009 Jun 15;117(2):67-73. doi: 10.1042/CS20080476.
53. Vanhoutte PM. Arginine and arginase: endothelial NO synthase double crossed? *Circ Res*. 2008 Apr 25;102(8):866-8. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.108.175570.
54. Volmer-Thole M, Lobmann R. Neuropathy and Diabetic Foot Syndrome. *Int J Mol Sci*. 2016 Jun 10;17(6). pii: E917. doi: 10.3390/ijms17060917.
55. Zintzaras E, Papathanasiou AA, Stefanidis I. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and diabetic nephropathy: A huge review and meta-analysis. *Genet Med*. 2009 Oct;11(10):695-706. doi: 10.1097/GIM.0b013e3181b2046b.

Отримано 18.06.2018 ■

Зорий І.А., Пашковська Н.В.

Высшее государственное учебное заведение Украины «Буковинский государственный медицинский университет», г. Черновцы, Украина

**Роль генетических факторов в развитии
диабетической дистальной симметричной полинейропатии
(обзор литературы и собственные исследования)**

Резюме. В статье представлены данные обзора литературы и собственные наблюдения по вопросу изучения роли генетических факторов в риске развития и прогрессирования тяжелых осложнений диабетической дистальной симметрической полинейропатии. Обнаружено, что у больных с дистальной симметрической полинейропатией на фоне сахарного диабета типа 2 имеет место ассоциация гомозиготного генотипа ТТ полиморфизма G894Т гена эндотелиальной NO-синтазы с достоверно выраженны-

ми признаками субъективной симптоматики, наличием аксонального поражения моторных нервов по электромиографическим признакам, с увеличением уровня гликозилированного гемоглобина, а также с повышением содержания продуктов перекисного окисления липидов.

Ключевые слова: сахарный диабет типа 2; дистальная симметрическая полинейропатия; генетические факторы; полиморфизм G894Т гена эндотелиальной NO-синтазы; обзор

I.A. Zoriy, N.V. Pashkovska

State Higher Education Institution of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi, Ukraine

**Role of genetic factors in the development
of diabetic distal symmetric polyneuropathy
(review of literature and own researches)**

Abstract. The article presents data of the literature review and own observations on studying the role of genetic factors in the risk of development and progression of severe complications of diabetic distal symmetric polyneuropathy. It was found that in patients with non-insulin-dependent (type 2) diabetes mellitus complicated by distal symmetric polyneuropathy, there is an association between the homozygous TT genotype of endothelial nitric oxide synthase gene G894T

polymorphism and significant subjective symptoms, the presence of axonal lesion of motor nerves according to electroneuromyography, with an increase in the level of glycated hemoglobin, and also in the content of lipid peroxidation products.

Keywords: diabetes mellitus type 2; distal symmetric polyneuropathy; genetic factors; endothelial nitric oxide synthase gene G894T polymorphism; review