

Полиморфный вариант rs4430796 гена HNF1B: пол-специфические, ИМТ-зависимые ассоциации с показателями метаболизма глюкозы, редокс-гомеостаза и риском сахарного диабета 2 типа

Азарова Ю.Э., Клёсова Е.Ю., Полоников А.В.

ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
305041 г. Курск, ул. К. Маркса, 3

Ожирение является важнейшим фактором риска развития сахарного диабета 2 типа (СД2). Гепатоцитарный ядерный фактор 1 β (*HNF1B*) контролирует глюкостатическую функцию островков Лангерганса поджелудочной железы и ассоциирован с развитием СД2 в европейской и азиатской популяциях. Однако исследований, оценивающих роль генетических вариантов *HNF1B* в формировании предрасположенности к СД2 в русской популяции, на сегодняшний день не проводилось. Целью настоящей работы стало изучение ассоциации полиморфного варианта rs4430796 (A>G) в интроне гена *HNF1B* с показателями гликемического профиля и редокс-гомеостаза, а также риском развития СД2 у жителей Центральной России, с учетом их пола и индекса массы тела. В исследование включено 3206 человек, из них 1579 больных СД2 и 1627 условно здоровых добровольцев. Генотипирование проводили с использованием технологии iPLEX на геномном времяпролетном масс-спектрометре MassArray 4 (Agena Bioscience). Впервые в русской популяции установлена взаимосвязь полиморфизма rs4430796 гена *HNF1B* с повышенным риском развития СД2 (OR 1,24, 95CI 1,05-1,47, $p=0,011$). Стратифицированный анализ по полу обнаружил, что выявленная ассоциация характерна только для женщин с избыточной массой тела (OR 1,54, 95CI 1,06-2,22, $p=0,02$) и ожирением (OR 2,07, 95CI 1,14-3,77, $p=0,047$) и отсутствует у лиц с нормальной массой тела вне зависимости от пола. Изучаемый SNP ассоциирован с повышенным содержанием перекиси водорода ($p=0,012$) и более низким уровнем общего глутатиона плазмы ($p=0,041$) у женщин, тогда как у мужчин с СД2 генотип G/G связан со снижением концентрации С-пептида ($p=0,004$) и повышением концентрации глюкозы крови ($p=0,015$). Биоинформатический анализ подтвердил отрицательный эффект аллеля G на экспрессию *HNF1B*, а также выявил его связь с гиперметилированием гена в различные периоды жизни, что обуславливает низкую экспрессию гена *HNF1B* у носителей минорного аллеля rs4430796-G. Таким образом, нами впервые установлено, что полиморфный вариант гена *HNF1B* rs4430796 ассоциирован с предрасположенностью к СД2 в русской популяции, при этом его связь с заболеванием имеет пол-специфический характер и зависит от индекса массы тела.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, *HNF1B*, однонуклеотидный полиморфизм, индекс массы тела, глутатион, перекись водорода, С-пептид

Для цитирования: Азарова Ю.Э., Клёсова Е.Ю., Полоников А.В. Полиморфный вариант rs4430796 гена *HNF1B*: пол-специфические, ИМТ-зависимые ассоциации с показателями метаболизма глюкозы, редокс-гомеостаза и риском сахарного диабета 2 типа. *Медицинская генетика* 2021; 20(1): 25-36.

DOI: 10.25557/2073-7998.2021.01.25-36

Автор для корреспонденции: Азарова Юлия Эдуардовна; e-mail: azzzzar@yandex.ru

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 20-15-00227).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Поступила: 20.11.2020.

Polymorphic variant rs4430796 at HNF1B gene: sex-specific, BMI-dependent associations with parameters of glucose metabolism, redox homeostasis and risk of type 2 diabetes

Azarova Iu. E., Klyosova E. Yu., Polonikov A.V.

Kursk State Medical University
K. Marx str., 3, Kursk, 305041 Russia

Obesity is a critical risk factor for type 2 diabetes mellitus (T2D). Hepatic nuclear factor 1 β (*HNF1B*) controls the glucostatic function of pancreatic islets of Langerhans and is associated with the development of T2D in the European and Asian populations. However, studies evaluating the contribution of genetic variants at *HNF1B* to the pathogenesis of the disease in Russian population have not been conducted to date. The aim of this work was to study the association of the polymorphic variant rs4430796 (A>G) in the intron of the *HNF1B* gene with parameters of glycemetic profile and redox homeostasis, as well as the risk of developing T2D in citizens of Central Russia, taking into account their gender and body mass index. The study included 3206 participants, 1579 patients with T2D and 1627 healthy volunteers. Genotyping was performed using iPLEX technology on a genomic time-of-flight mass spec-

trometer MassArray 4 (Agena Bioscience). For the first time in the Russian population, the relationship of the rs4430796 polymorphism at the *HNF1B* gene with an increased risk of developing T2D (OR 1,24, 95CI 1,05-1,47, $p=0,011$) was established. A gender-stratified analysis found that the association is characteristic only for females with overweight (OR 1,54, 95CI 1,06-2,22, $p=0,02$) and obesity (OR 2,07, 95CI 1,14-3,77, $p=0,047$) and is absent in individuals with normal body weight, regardless from the gender. The studied SNP is associated with an increased content of hydrogen peroxide ($p=0,012$) and a lower level of total plasma glutathione ($p=0,041$) in females, whereas in diabetic males the G/G genotype is associated with a decrease in the concentration of C-peptide ($p=0,004$) and an increase in blood glucose concentration ($p=0,015$). Bioinformatic analysis confirmed the negative effect of the alternative G allele on the expression of the *HNF1B* gene, as well as its relationship with hypermethylation of the gene at different periods of life, which leads to low expression of *HNF1B* in carriers of variant rs4430796. Conclusions: It was found for the first time that the polymorphic variant rs4430796 of the *HNF1B* gene is associated with a predisposition to T2D, whereas its relationship with the disease is sex-specific and depends on body mass index.

Keywords: type 2 diabetes mellitus, *HNF1B*, single nucleotide polymorphism, body mass index, glutathione, hydrogen peroxide, C-peptide

For citation: Azarova Iu. E., Klyosova E. Yu., Polonikov A.V. Polymorphic variant rs4430796 at *HNF1B* gene: sex-specific, BMI-dependent associations with parameters of glucose metabolism, redox homeostasis and risk of type 2 diabetes. *Medicinskaja genetika [Medical genetics]* 2021; 20(1): 25-36. (In Rus.). DOI: 10.25557/2073-7998.2021.01.25-36

Corresponding author: Luliia E. Azarova; e-mail: azzzzar@yandex.ru

Funding. The study was supported by Russian Science Foundation (№20-15-00227).

Conflict of interest. Authors declare no conflicts of interest.

Accepted: 20.11.2020.

Сахарный диабет 2 типа (СД2) – серьезное хроническое заболевание, характеризующееся гипергликемией и вызванное преимущественной инсулинорезистентностью и относительной инсулиновой недостаточностью или преимущественным дефектом секреции инсулина с инсулинорезистентностью или без нее [1]. Высокие темпы роста распространенности СД2 и его осложнений, ранняя инвалидизация и смертность сделали СД2 первой неинфекционной патологией, в отношении которой Организация Объединенных Наций в декабре 2006 г приняла резолюцию, призывающую создать национальные государственные программы здравоохранения по предупреждению, лечению и профилактике сахарного диабета и его осложнений. По данным Международной диабетической Федерации за последние 15 лет число больных диабетом в мире увеличилось более чем в 2 раза: с 200 млн в 2005 г. до 463 млн в 2019 г. При этом общее число больных диабетом в России превышает 8 млн человек [2].

Важнейшим фактором риска развития СД2 является ожирение, что подчеркивается выдвинутым еще в 70-х гг XX века термином «diabesity». Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, ожирением страдают более 500 млн человек и еще 1,6 млрд лиц старше 15 лет имеют избыточную массу тела. В Российской Федерации распространенность избыточной массы тела и ожирения составляет 46,5% среди мужчин и 51,7% среди женщин [1]. И ожирение, и СД2 представляют собой многофакторные заболевания, генетическая основа которых не вызывает сомнений: на это указывают высокий уровень concor-

дантности по СД2 и ожирению у монозиготных близнецов и семейное накопление болезни [3-4].

Кандидатные и полногеномные ассоциативные исследования установили сотни общих для этих двух нозологий однонуклеотидных вариантов в генах, ответственных за дисфункцию бета-клеток поджелудочной железы (*TCF7L2*, *KCNJ11*, *GCKR*, *SLC30A8*, *IGF2BP2*, *HNF1A*, *HNF1B*, *HNF4A*, *PDX1*) и инсулинорезистентность (*FTO*, *PPARA*, *PPARG*, *IRS1*, *IRS2*, *PTEN*, *UCP2*), однако точные механизмы участия этих вариантов в становлении фенотипа СД2, включающего как хроническую гипергликемию, так и окислительный стресс, до сих пор не ясны [3-5]. Смещение редокс-гомеостаза в сторону прооксидантного статуса приводит к нарушению редокс-сигнализации и повреждению макромолекул, в том числе участвующих во внутриклеточной сигнализации инсулина. Именно с формированием окислительного стресса связывают развитие основных патофизиологических изменений, характерных для СД2, а именно дисфункции бета-клеток поджелудочной железы и инсулинорезистентности [6].

Одним из вариантов, обнаруженных в полногеномном исследовании СД2 в Европейской популяции, является SNP rs4430796 (A>G) в интроне гена *HNF1B* [7]. Ассоциация данного локуса с СД2 была успешно реплицирована в японской [8] и китайской популяциях [9]. Белок HNF1B или транскрипционный фактор 2 (*TCF2*), принадлежит к семейству гомеодоменсодержащих транскрипционных факторов, непосредственно контролирующим развитие поджелудочной железы, печени и почек [10]. Первые сообщения

о роли *HNF1B* в развитии сахарного диабета восходят к 1997 году, когда Nogikawa Y. с соавт. [11] описали мутации в гене *HNF1B*, связанные с развитием диабета зрелого типа у молодых MODY5. Позже было открыто, что и сочетание диабета с поликистозом почек также спровоцировано мутациями в гене *HNF1B* [12]. Следует подчеркнуть факт высокой экспрессии *HNF1B* в островках Лангерганса поджелудочной железы [13], где этот транскрипционный фактор непосредственно контролирует гомеостаз глюкозы.

Литературные данные о связи *HNF1B* с показателями углеводного обмена противоречивы. В частности, Holmkvist J. с соавт. [14] не обнаружили влияния полиморфных вариантов в гене *HNF1B* ни на уровень глюкозы натощак, ни на концентрацию инсулина в крови. Не было установлено и ассоциации rs4430796 с содержанием глюкозы крови через 2 часа после углеводной нагрузки в ходе выполнения теста толерантности к глюкозе [15]. Цель настоящей работы – изучить ассоциации однонуклеотидного варианта rs4430796 гена *HNF1B* с риском СД2, биохимическими показателями редокс-гомеостаза и метаболизма глюкозы, а также оценить триггерную роль ожирения в реализации наследственной предрасположенности к СД2 у носителей различных генотипов *HNF1B*.

Материалы и методы

Протокол исследования одобрен Региональным этическим комитетом при Курском государственном медицинском университете (выписка из протокола №10 от 12.12.2016 г). Все участники дали письменное информированное согласие на участие в исследовании. Критерии включения и исключения в группы больных и здоровых лиц были подробно изложены нами ранее [5]. В исследование приглашали больных СД2, получавших стационарное лечение на базе эндокринологического отделения Курской городской клинической больницы скорой медицинской помощи с декабря 2016 по октябрь 2019 гг. В группу здоровых индивидов приглашали доноров областной станции переливания крови, а также использовали материалы наших предыдущих исследований [16].

Проводилось анкетирование по основным факторам риска как больных, так и здоровых лиц, а также расчет индекса массы тела (ИМТ, кг/м²). У всех участников исследования проводили однократный забор 10 мл крови натощак в вакуумные пробирки с ЭДТА (для генетических исследований) и гепарином лития (для биохимических исследований). Основными конечными точками исследования стали значения роста, массы тела, ИМТ, наличия или отсутствия факта

курения, наследственной отягощенности по СД2, концентрации гликированного гемоглобина (HbA1c), глюкозы крови натощак, С-пептида, общего холестерина, липопротеинов высокой и низкой плотности (ЛВП, ЛНП), триацилглицеролов (ТАГ), перекиси водорода (H₂O₂) и глутатиона (GSH/GSSG) в плазме крови, а также характеристики генотипов *HNF1B* у всех пациентов с СД2 и здоровых участников исследования. В рамках исследования сформированные группы контроля и пациентов с СД2 были поделены на подгруппы по полу и ИМТ на мужчин и женщин с нормальной массой тела (ИМТ<25), избыточной массой тела (30>ИМТ≥25) и ожирением (ИМТ≥30).

Для измерения содержания перекиси водорода и глутатиона, проводили забор 5 мл венозной крови в вакуумные пробирки с гепарином лития, центрифугировали их 15 минут при 3500 об./мин., для детекции H₂O₂ плазму аликвотировали и замораживали при -80°C. Образцы, предназначенные для измерения уровня GSH/GSSG, предварительно подвергали депротенинизации ледяным раствором трихлоруксусной кислоты, центрифугировали 10 мин при 12000 об./мин, надосадочную жидкость аликвотировали и замораживали при -80°C. Концентрации H₂O₂ и GSH/GSSG определяли с помощью наборов OxiSelect ROS/RNS Assay kit (Cell Biolabs), GSH/GSSG Assay kit (Abcam) флуориметрическим методом, на микропланшетном ридере Varioscan Flash (Thermo Fisher Scientific, США). Концентрации глюкозы, HbA1c, С-пептида, общего холестерина, ЛВП, ЛНП и ТАГ определяли на полуавтоматическом биохимическом анализаторе Clima MC-15 (RAL, Испания) стандартными наборами реагентов фирмы «Диакон-ДС» (Россия).

Для проведения генетических исследований у всех больных и здоровых проводили забор 5 мл венозной крови натощак в вакуумные пробирки Vacuette с ЭДТА. Геномную ДНК выделяли стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции, а также колоночным методом с помощью набора QIAamp DNA blood kit (QIAGEN) на автоматической станции QiaCube (QIAGEN, Германия). Качество выделенной ДНК оценивали по степени чистоты и концентрации раствора на спектрофотометре NanoDrop (Thermo Fisher Scientific, США). Генотипирование полиморфизма гена *HNF1B* проводили с использованием технологии iPLEX на геномном времяпролетном масс-спектрометре MassArray Analyzer 4 (Agena Bioscience, США).

Ассоциации генотипов с риском СД2 изучали методом логистической регрессии с поправкой на пол, возраст и ИМТ с помощью программы SNPStats [17]. Тестировалось пять генетических моделей: кодами-

нантная, доминантная, рецессивная, сверхдоминантная и log-аддитивная. В качестве лучшей выбирали модель с наименьшим значением критерия Акаике. Для оценки регуляторного потенциала вариантов ДНК использовали онлайн ресурс GTEx Portal, представляющий экспериментальные данные по влиянию ДНК-полиморфизмов в геноме на тканеспецифическую экспрессию генов [18]. mQTL Database использовали для изучения влияния SNP rs4430796 на статус метилирования гена *HNF1B* [19]. Инструмент STRING [20] применяли для визуальной оценки взаимодействия гена *HNF1B* с другими генами на уровне белковых продуктов. GENE Ontology [21] использовали для поиска генных онтологий, описывающих биологические функции белков сети, в структуру которой входит *HNF1B*.

Количественные биохимические показатели проверяли на нормальность распределения по критерию Колмогорова-Смирнова. Показатели с нормальным распределением были описаны в формате: среднее значение \pm стандартное отклонение, в качестве теста для оценки статистической значимости различий между группами использовали тест Стьюдента. Показатели с ненормальным распределением описывали с использованием медианы, первого и третьего квартилей в формате Me [Q1; Q3], критерий Манна-Уитни применяли для тестирования статистической значимости результатов расчетов. Выяв-

ленные межгрупповые отличия считались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

В исследовании приняли участие 3206 жителей Центральной России, преимущественно Курской области, из которых 1579 человек составили группу больных СД2 и 1627 здоровых индивидов вошли в группу контроля (табл. 1). Группы больных и здоровых были сопоставимы по полу и возрасту ($p > 0,05$). Стаж диабета у больных составил 9 лет. У 38,7% пациентов имел место отягощенная наследственность по СД2. Доля курящих была выше в группе контроля ($p = 0,001$) по сравнению с группой больных. Показатели углеводного и липидного обмена изучались у всех участников проекта, при этом концентрации глюкозы натощак, HbA1c, общего холестерина, ЛНП и ТАГ были выше у больных СД2 ($p < 0,0001$), концентрация С-пептида была выше в группе контроля ($p = 0,035$).

Частоты аллелей и генотипов изучаемого полиморфизма гена *HNF1B* представлены в табл. 2. Исследованный SNP находился в соответствии с равновесием Харди-Вайнберга ($p > 0,05$). Линейный регрессионный анализ выявил ассоциацию генотипов A/G-G/G rs4430796 с повышенным риском развития СД2 (OR 1,21, 95CI 1,04-1,40, $p = 0,014$, доминантная модель). Ассоциация осталась значимой и после введения по-

Таблица 1

Демографические и клинические характеристики участников исследования

Параметры сравнения	Контроль, n=1627	Больные СД2, n=1579	p*
Возраст, ср, \pm ст.от.	60,8 \pm 6,4	61,3 \pm 10,4	0,34
Мужчины, n (%)	598 (36,8)	591 (37,4)	0,77
Женщины, n (%)	1029 (63,2)	988 (62,6)	
Индекс массы тела (кг/м ²), ср, \pm ст.от.	27,22 \pm 3,55	31,94 \pm 6,65	0,001
Курящие, n (%)	504 (31,0%)	411 (26,0%)	0,004
Стаж диабета, Me [Q1; Q3]	-	9,0 [3,0; 15,0]	-
Наследственная отягощенность, n (%)	33 (2,0%)	611 (38,7%)	<0,0001
HbA1C (%), Me [Q1; Q3]	4,58 [4,11; 4,87]	9,02 [7,70; 10,80]	<0,0001
Глюкоза крови натощак, Me [Q1; Q3]	4,71 [4,39; 4,84]	12,20 [9,70; 15,20]	<0,0001
Общий холестерин (ммоль/л), Me [Q1; Q3]	3,06 [2,86; 3,12]	5,10 [4,27; 6,09]	<0,0001
ЛПН (ммоль/л), Me [Q1; Q3]	1,74 [1,60; 1,79]	3,03 [2,40; 4,05]	<0,0001
ЛВП (ммоль/л), Me [Q1; Q3]	1,47 [1,36; 1,62]	0,85 [0,74; 1,07]	<0,0001
ТАГ (ммоль/л), Me [Q1; Q3]	1,15 [0,98; 1,23]	2,20 [1,55; 3,00]	<0,0001
С-пептид, Me [Q1; Q3], мкмоль/л	4,10 [2,12; 4,87]	2,71 [0,88; 5,12]	0,035

Примечание: HbA1C – гликированный гемоглобин; ЛНП – липопротеины низкой плотности; ЛВП – липопротеины высокой плотности; ТАГ – триацилглицеролы; * жирным выделены статистически значимые P.

правок на пол, возраст и ИМТ (OR 1,24, 95CI 1,05-1,47, $p=0,011$). Стратифицированный анализ по полу позволил установить ассоциацию минорного аллеля G с повышенным риском СД2 у женщин (OR 1,14, 95CI 1,01-1,29, $p=0,04$). Генотипы A/G и G/G также были ассоциированы с риском СД2 исключительно у женщин (OR 1,39, 95CI 1,10-1,75, $p=0,0062$, доминантная модель), тогда как у мужчин данная ассоциация отсутствовала ($p>0,05$).

Принимая во внимание пол-специфический характер выявленной ассоциации, а также тот факт, что 87,1% больных имели избыточную массу тела и ожирение, нам представлялось важным провести оценку влияния ИМТ на ассоциации полиморфизма rs4430796 гена *HNF1B* с риском развития СД2 (табл. 3).

Исследованный SNP оказался значимо ассоциирован с повышенным риском развития СД2 в подгруппе женщин с избыточной массой тела (OR 1,54, 95CI 1,06-2,22, $p=0,02$, доминантная модель) и ожирением (OR 2,07, 95CI 1,14-3,77, $p=0,047$, кодоминантная модель). Примечательно, что у больных с нормальной массой тела ассоциация полиморфизма rs4430796 с риском СД2 не наблюдалась ни у мужчин, ни у женщин ($p>0,05$).

При анализе взаимосвязей между генотипами *HNF1B* и биохимическими показателями больных СД2

(табл. 4) было обнаружено, что изучаемый SNP ассоциирован с повышенным содержанием H_2O_2 ($p=0,012$) и более низким уровнем общего глутатиона плазмы ($p=0,041$) у женщин, тогда как у мужчин с СД2 генотип G/G связан со снижением концентрации С-пептида ($p=0,004$) и повышением концентрации глюкозы крови ($p=0,015$).

Согласно данным ресурса BioGPS, ген *HNF1B* экспрессируется в широком спектре тканей и обладает наибольшей экспрессией в поджелудочной железе. С помощью онлайн-программы GTE Portal, депонирующей результаты транскриптомного анализа 54 видов тканей 1000 здоровых индивидуумов, мы провели анализ тканеспецифических эффектов минорного аллеля G изучаемого SNP и обнаружили, что носители генотипа G/G имеют более низкую экспрессию *HNF1B* в поджелудочной железе (рис. 1).

Анализ эффектов rs4430796 на уровень метилирования гена *HNF1B*, выполненный с помощью инструмента mQTLdb, показал, что аллель G связан с гиперметилированием гена при рождении ($p=2,08*10^{-35}$), в детском ($p=1,42*10^{-48}$) и взрослом возрасте ($p=1,07*10^{-45}$), а значит, ассоциирован с меньшей транскрипционной активностью *HNF1B* в эти периоды жизни.

Таблица 2

Частоты аллелей и генотипов *HNF1B* у больных СД2 и здоровых лиц

Генотип/Аллель	Контроль, n (%)	Больные СД2, n (%)	OR (95% CI) ^D	p	OR* (95% CI) ^D	p*
Общая выборка						
A/A	523 (32,1)	445 (28,2)	1,00	0,014	1,00	0,011
A/G	814 (50)	851 (53,9)	1,21 (1,04-1,40)		1,24 (1,05-1,47)	
G/G	290 (17,8)	283 (17,9)				
G	42,8%	44,9%	1,09 (0,98-1,20)	0,101	-	-
Мужчины						
A/A	193 (32,1)	176 (30,1)	1,00	0,46	1,00	0,59
A/G	295 (49,1)	308 (52,7)	1,10 (0,86-1,40)		1,07 (0,83-1,40)	
G/G	113 (18,8)	100 (17,1)				
G	43,3%	43,5	1,01 (0,86-1,18)	0,94	-	-
Женщины						
A/A	330 (32,2)	266 (26,9)	1,00	0,0091	1,00	0,0062
A/G	517 (50,5)	540 (54,7)	1,29 (1,06-1,56)		1,39 (1,10-1,75)	
G/G	177 (17,3)	182 (18,4)				
G	42,5%	45,7%	1,14 (1,01-1,29)	0,04	-	-

Примечание: OR* (95% CI)^D - Отношение шансов и доверительный интервал при поправке на пол, возраст и ИМТ согласно доминантной генетической модели.

p* – уровень значимости при поправке на пол, возраст и ИМТ.

Стратифицированный по полу и ИМТ анализ частот генотипов и аллелей *HNF1B* у больных СД2 и здоровых лиц

	Генотип/ Аллель	Контроль, n (%)	Больные СД2, n (%)	OR (95 CI)	p	OR* (95 CI)	p*
Общая выборка	ИМТ <25						
	A/A	100 (32,1)	65 (31,9)	1,00	0,94 ^D	1,00	0,84 ^D
	A/G	136 (43,7)	102 (50)	1,01 (0,69-1,48) ^D		1,04 (0,70-1,54) ^D	
	G/G	75 (24,1)	37 (18,1)				
	G	46,9%	43,1%	0,89 (0,69-1,15)	0,37	-	-
	25 ≤ ИМТ <30						
	A/A	343 (31,5)	105 (25,1)	1,00	0,015 ^D	1,00	0,0088 ^D
	A/G	558 (51,2)	230 (55)	1,37 (1,06-1,77) ^D		1,41 (1,09-1,82) ^D	
	G/G	189 (17,3)	83 (19,9)				
	G	42,9%	47,4%	1,20 (1,02-1,40)	0,028	-	-
	ИМТ ≥30						
	A/A	80 (35,4)	275 (28,7)	1,00	0,04 ^{CD}	1,00	0,12 ^{CD}
	A/G	120 (53,1)	519 (54,2)	1,82 (1,13-2,96) ^{CD}		1,66 (1,01-2,74) ^{CD}	
	G/G	26 (11,5)	163 (17)				
	G	38,1%	44,1%	1,29 (1,04-1,59)	0,019	-	-
	Мужчины	ИМТ <25					
A/A		37 (32,7)	41 (35)	1,00	0,71 ^D	1,00	0,70 ^R
A/G		51 (45,1)	53 (45,3)	0,90 (0,52-1,56)		0,90 (0,52-1,55) ^D	
G/G		25 (22,1)	23 (19,7)				
G		44,7%	42,3%	0,91 (0,63-1,31)	0,60	-	-
25 ≤ ИМТ <30							
A/A		141 (31,8)	49 (26,1)	1,00	0,15 ^D	1,00	0,20 ^D
A/G		222 (50,1)	106 (56,4)	1,32 (0,90-1,94) ^D		1,28 (0,87-1,89) ^D	
G/G		80 (18,1)	33 (17,6)				
G		43,1%	45,7%	1,11 (0,87-1,42)	0,39	-	-
ИМТ ≥30							
A/A		15 (33,3)	89 (31,1)	1,00	0,77 ^D	1,00	0,80 ^D
A/G		22 (48,9)	152 (53,1)	1,11 (0,57-2,16) ^D		1,09 (0,56-2,13) ^D	
G/G		8 (17,8)	45 (15,7)				
G		42,2%	42,3%	1,00 (0,64-1,57)	0,92	-	-
Женщины		ИМТ <25					
	A/A	63 (31,8)	24 (27,6)	1,00	0,47 ^D	1,00	0,59 ^D
	A/G	85 (42,9)	49 (56,3)	1,22 (0,70-2,14) ^D		1,17 (0,65-2,10) ^D	
	G/G	50 (25,2)	14 (16,1)				
	G	46,7%	44,3%	0,91 (0,63-1,30)	0,59	-	-
	25 ≤ ИМТ <30						
	A/A	202 (31,3)	56 (24,4)	1,00	0,044 ^D	1,00	0,02 ^D
	A/G	334 (51,8)	124 (53,9)	1,42 (1,01-2,00) ^D		1,54 (1,06-2,22) ^D	
	G/G	109 (16,9)	50 (21,7)				
	G	42,8%	48,7%	1,27 (1,02-1,57)	0,029	-	-
	ИМТ ≥30						
	A/A	65 (35,9)	186 (27,7)	1,00	0,012 ^{CD}	1,00	0,047 ^{CD}
	A/G	98 (54,1)	367 (54,7)	2,29 (1,29-4,05) ^{CD}		2,07 (1,14-3,77) ^{CD}	
	G/G	18 (9,9)	118 (17,6)				
	G	37,0%	44,9%	1,39 (1,09-1,76)	0,007	-	-

Примечание: OR* (95 CI) - Отношение шансов и доверительный интервал при поправке на пол, возраст и ИМТ; D – доминантная генетическая модель; CD - кодоминантная генетическая модель. p* – уровень значимости при поправке на пол, возраст и ИМТ.

Биохимические показатели у носителей различных генотипов *HNF1B*

Показатель	Генотип	Концентрация метаболита, Ср. (ст.ош.)	Отличие (95%CI)	p
С-пептид	Общая выборка			
	A/A	2,58 (0,3)	0,00	0,31 ^{CD}
	A/G	2,93 (0,25)	0,35 (-0,39 - 1,08)	
	G/G	2,26 (0,26)	-0,33 (-1,34 - 0,69)	
	Мужчины			
	A/A	2,32 (0,37)	0,00	0,004 ^{CD}
	A/G	3,17 (0,33)	0,85 (-0,06 - 1,76)	
	G/G	1,61 (0,26)	-0,70 (-1,99 - 0,58)	
	Женщины			
	A/A	2,95 (0,5)	0,00	0,92 ^{CD}
A/G	2,72 (0,38)	-0,24 (-1,43 - 0,95)		
G/G	2,84 (0,37)	-0,11 (-1,69 - 1,47)		
Глюкоза	Общая выборка			
	A/A	12,88 (1,03)	0,00	0,015 ^R
	A/G	11,15 (0,85)		
	G/G	16,95 (2,05)		
	Мужчины			
	A/A	12,66 (1,51)	0,00	0,044 ^R
	A/G	9,88 (1,17)		
	G/G	17,5 (2,1)		
	Женщины			
	A/A	13,05 (1,49)	0,00	0,14 ^R
A/G	11,83 (1,14)			
G/G	16,68 (3,12)	4,36 (-0,60 - 9,32)		
H ₂ O ₂	Общая выборка			
	A/A	3,9 (0,2)	0,00	0,028 ^D
	A/G	4,39 (0,16)		
	G/G	4,48 (0,33)		
	Мужчины			
	A/A	4,05 (0,37)	0,00	0,44 ^D
	A/G	4,09 (0,29)		
	G/G	3,61 (0,35)		
	Женщины			
	A/A	3,82 (0,23)	0,00	0,012 ^D
A/G	4,5 (0,19)			
G/G	4,86 (0,43)	0,76 (0,12 - 1,39)		
Общий глутатион	Общая выборка			
	A/A	4,78 (0,65)	0,00	0,045 ^{CD}
	A/G	3,87 (0,75)		
	G/G	1,29 (0,4)		
	Мужчины			
	A/A	6,97 (0)	0,00	0,59 ^{CD}
	A/G	4,26 (1,79)		
	G/G	2,02 (0)		
	Женщины			
	A/A	4,5 (0,66)	0,00	0,041 ^R
A/G	3,73 (0,9)			
G/G	0,93 (0,26)	-3,25 (-6,08 - -0,42)		

Примечание: генетическая модель CD – кодоминантная, D – доминантная, R – рецессивная.

Обсуждение

В рамках настоящего исследования впервые выявлена взаимосвязь полиморфизма rs4430796 гена *HNF1B* с повышенным риском развития СД2 у женщин с избыточной массой тела и ожирением в русской популяции. У лиц с нормальной массой тела рискованный эффект

HNF1B не наблюдался независимо от пола. У больных СД2 содержание H_2O_2 было резко повышено по сравнению с контролем. Также было установлено, что полиморфизм rs4430796 ассоциирован с повышенным содержанием перекиси водорода и пониженным уровнем общего глутатиона в плазме крови больных СД2 женщин, тогда как у мужчин носительство вариантного аллеля rs4430796-G сопряжено с более низким уровнем С-пептида и более высокой концентрацией глюкозы в плазме крови. Биоинформатический анализ подтвердил отрицательный эффект аллеля G на экспрессию гена *HNF1B*, а также выявил его связь с гиперметилированием гена в различные периоды жизни, что обуславливает низкую экспрессию *HNF1B* у носителей варианта rs4430796.

Гепатоцитарный ядерный фактор 1 β , *HNF1B*, в виде гомодимера или гетеродимера с гомологичным партнером *HNF1A* связывается с последовательностью ДНК, представляющей собой перевернутый палиндром 5'-GTTAATNATTAAC-3', активируя транскрипцию целого ряда генов в островках Лангерганса, печени, почках и других тканях [22]. Однако, наибольшей экспрессией *HNF1B* обладает именно в эндокринной части поджелудочной железы [13].

Анализ белковой сети, образуемой *HNF1B* (по данным STRING), выявил десять основных партнеров фермента (рис. 2). Ими являются альфа-субъединица панкреатического транскрипционного фактора (PTF1A), гепатоцитарный ядерный фактор 6 (*ONECUT1*), птерин-4-альфа-

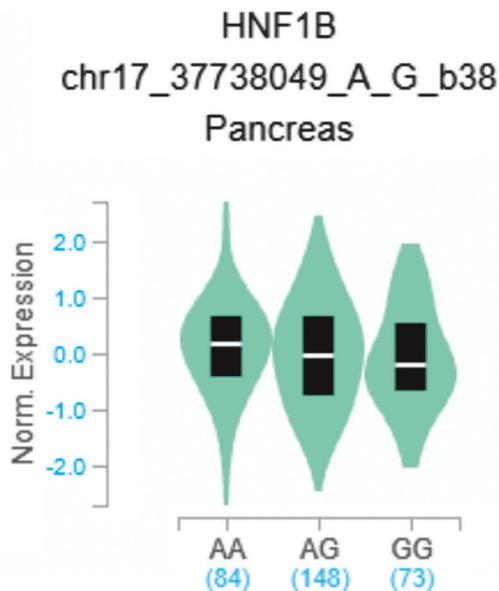


Рис. 1. Экспрессия *HNF1B* у носителей различных генотипов rs4430796.

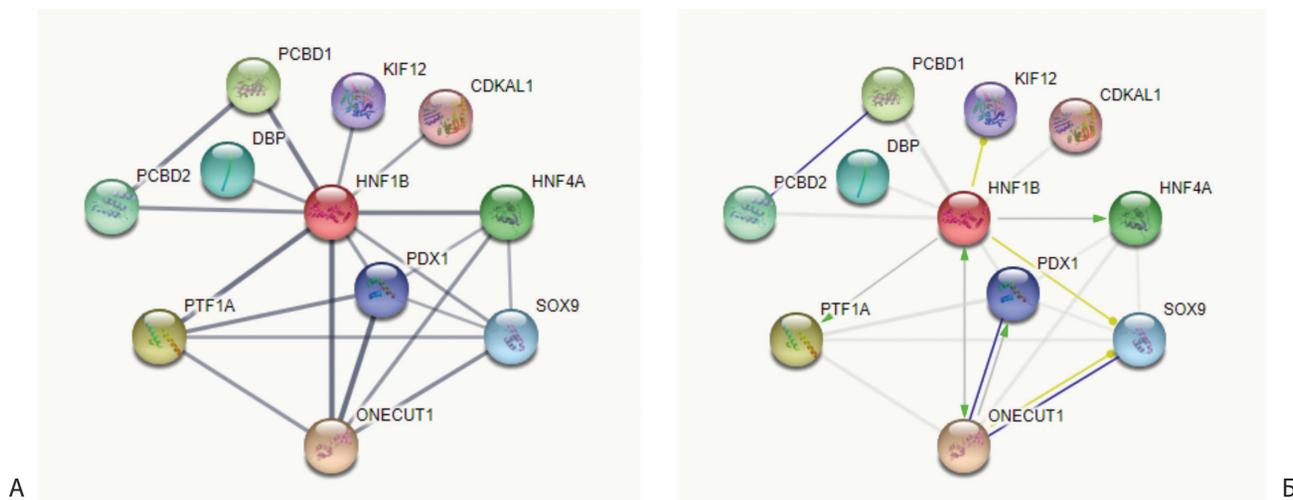


Рис. 2. Сеть белков, образуемая *HNF1B*.

А – толщина соединяющих белки линий пропорциональна степени их взаимодействий; Б – показаны типы молекулярных взаимодействий: зелеными стрелками обозначена активация, желтыми линиями – транскрипционный контроль, синими – физический контакт. PTF1A – панкреатический транскрипционный фактор, альфа-субъединица; *ONECUT1* – гепатоцитарный ядерный фактор 6; PCBD1 – птерин-4-альфа-карбиноламиндегидратаза 1; PCBD2 – птерин-4-альфа-карбиноламиндегидратаза 2; *HNF4A* — гепатоцитарный ядерный фактор 4-альфа; DBP – D-сайт связывающий белок; SOX9 – SRY-бокс транскрипционный фактор 9; PDX1 – белок 1 гомеобокса поджелудочной железы/двенадцатиперстной кишки; KIF12 – кинезин-подобный белок 12; CDKAL1 – треонилкарбамоиладенозин-тРНК-метилтиотрансфераза.

карбиноламиндегидратаза 1 (PCBD1), птерин-4-альфа-карбиноламиндегидратаза 2 (PCBD2), гепатоцитарный ядерный фактор 4-альфа (HNF4A), D-сайт связывающий белок (DBP), SRY-бокс транскрипционный фактор 9 (SOX9), белок 1 гомеобокса поджелудочной железы/двенадцатиперстной кишки (PDX1), кинезин-подобный белок 12 (KIF12) и треоилкарбамоиладенозин-ТРНК-метилтрансфераза (CDKAL1). Анализ обогащения терминами генных онтологий Gene Ontology обнаружил, что HNF1B вовлечен в развитие островков Лангерганса поджелудочной железы (совместно с PDX1, SOX9, ONECUT1, FDR=1,46*10⁻⁶), развитие печени (совместно с DBP, PDX1, SOX9, ONECUT1, FDR=1,56*10⁻⁶), отрицательную регуляцию апоптоза мезенхимальных клеток (совместно с SOX9, FDR=3,4*10⁻⁴), Notch-сигнальный путь (совместно с SOX9, ONECUT1, FDR=5,5*10⁻⁴), ответ на глюкозу (совместно с PDX1, HNF4A, FDR=7,5*10⁻⁴), секрецию инсулина (совместно с PDX1, FDR=2,7*10⁻³) и половую дифференцировку (совместно с HNF4A, SOX9, FDR=3,7*10⁻³). Выполненное нами исследование в русской популяции выявило взаимосвязь полиморфизма rs4430796 во втором интроне гена *HNF1B* с повышенным риском развития СД2 у женщин, тем самым, демонстрируя потенциальную вовлеченность данной однонуклеотидной замены в некодирующей последовательности гена гепатоцитарного ядерного фактора 1 β в патогенез этой болезни. *Loss-of-function* мутации в экзонах гена *HNF1B* (rs544890850, rs147816724, rs144416724 и другие, Ensembl) приводят к развитию MODY5 (от англ. maturity-onset diabetes of the young type 5) – особой формы диабета с ранней манифестацией до 25 лет и аутосомно-доминантным типом наследования, обнаруженной в европейской, китайской и японской популяциях [11, 23]. В литературе описан синдром микроделеции 17q12, пример редкой хромосомной аномалии, которая развивается из-за частичной делеции длинного плеча хромосомы 17, затрагивающей ген *HNF1B*, и также приводит к развитию MODY5 в сочетании с поликистозом почек, аутизмом и неврологическими нарушениями [12]. Существуют и единичные исследования, описывающие роль гена *HNF1B* в развитии аутосомно-доминантной тубулоинтерстициальной болезни почек [24], непапиллярного рака почек, семейной формы рака простаты, а также первичной гипомagneмемии и гипокальциурии [25], являющихся результатом нарушений транскрипционного контроля в соответствующих тканях из-за полного отсутствия или низкой экспрессии гена *HNF1B*. Связь изучаемого нами полиморфизма rs4430796 с СД2 была впервые описана в полногеномном исследовании в европейской популяции [7] и затем была неоднократно

реплицирована японскими [8] и китайскими учеными [9]. Проведенный нами биоинформатический анализ установил, что минорный аллель rs4430796-G снижает экспрессию *HNF1B* в поджелудочной железе. Кроме того, минорный аллель G связан с гиперметилением гена и, как следствие, его меньшей транскрипционной активностью. В островках Лангерганса эти эффекты особенно важны, поскольку в этих клетках *HNF1B* непосредственно вовлечен в синтез и секрецию инсулина в ответ на глюкозу. Действительно, в нашем исследовании генотип G/G rs4430796 ассоциировался с более низкими уровнями С-пептида и более высокими значениями гликемии у больных СД2 мужчин.

Многочисленными клиническими исследованиями и экспериментальными работами на животных и клеточных линиях было показано, что диабетическая гипергликемия сопряжена с избыточной генерацией активных форм кислорода и снижением количества антиоксидантов, таких, как глутатион [26]. Концентрация H₂O₂ у больных СД2 в нашем исследовании значительно превышала соответствующие показатели контрольной группы, тогда как уровень общего глутатиона был выше у здоровых лиц. Аналогичные результаты были получены и другими исследователями. Так, Lagman M. с соавт. [27] показали, что концентрация восстановленного глутатиона в плазме и эритроцитах больных была в 2 раза ниже, а уровень окисленного глутатиона в 2 раза выше, чем у здоровых лиц. Отрицательный эффект альтернативного аллеля изучаемого варианта *HNF1B* на редокс-баланс был показан только в нашем исследовании: полиморфизм rs4430796 ассоциирован со снижением концентрации общего глутатиона и повышением содержания H₂O₂ у больных СД2 женщин.

По всей видимости, ассоциация *HNF1B* с предрасположенностью к заболеванию модулируется полом и ИМТ: в нашем исследовании рискованный эффект минорного аллеля был отмечен только у женщин с избыточной массой тела и ожирением. Факт отсутствия ассоциаций гена *HNF1B* в отношении риска СД2 исключительно у пациентов с ИМТ < 25 вне зависимости от пола подчеркивает возможность существования по крайней мере двух патогенетических вариантов заболевания. Первый характерен для лиц с нормальной массой тела и включает нарушения секреции инсулина бета-клетками при одновременном уменьшении их числа как главный механизм развития диабетической гипергликемии. В этих условиях бета-клетки демонстрируют модуль экспрессии, соответствующий различным стадиям дедифференцировки [28]. Чувствительность тканей к инсулину у таких пациентов, как правило, сохранена. Второй вариант патогенеза наблюдается у больных с избыточной массой тела или

ожирением и включает как дисфункцию бета-клеток, так и инсулинорезистентность. Существуют две точки зрения касательно последовательности возникновения этих патофизиологических феноменов. Согласно одной, несостоятельность инсулин-продуцирующего аппарата поджелудочной железы первична и именно гиперинсулинемия, а не гипергликемия, вызывает инсулинорезистентность периферических тканей. В экспериментах на мышах [29] было показано, что кормление жирной пищей приводит к гиперинсулинемии настолько уже на 3-4 день при нормальной концентрации глюкозы. Кроме того, внутриклеточные медиаторы, например, активные формы кислорода и длинноцепочечные жирные кислоты также усиливают секрецию инсулина [30], что приводит к развитию белой жировой ткани, активации выброса из адипоцитов провоспалительных цитокинов, жировой инфильтрации печени и гиперпродукции триацилглицеролов, секретиремых печенью в кровь в виде липопротеинов очень низкой плотности. Согласно второй гипотезе, инсулинорезистентность предшествует дисфункции бета-клеток, выступая в качестве ее триггера и вызывая нарушение транслокации транспортеров глюкозы GLUT4 к мембране в скелетных миоцитах и адипоцитах, а также неспособность протеинкиназы В (Akt) ингибировать белок FOXO1, что, свою очередь, активирует экспрессию ключевых ферментов глюконеогенеза и увеличивает продукцию глюкозы печенью [31].

Таким образом, в проведенном исследовании впервые в русской популяции установлена ассоциация rs4430796 гена *HNF1B* с повышенным риском развития СД2 у женщин с избыточной массой тела и ожирением. Механизм взаимосвязи данных вариантов с заболеванием объясняется менее выраженным синтезом этого транскрипционного фактора у носителей минорного аллеля G, что проявляется снижением концентрации С-пептида, повышением концентрации глюкозы и H_2O_2 в плазме крови. Данная ассоциация имеет полспецифический характер и модулируется ИМТ. Полученные данные открывают перспективы для дальнейшего изучения генетико-биохимических особенностей метаболизма при СД2 и поиска новых молекулярных мишеней для антиоксидантной и сахароснижающей терапии и профилактики болезни.

Авторы выражают благодарность главному врачу Курской городской клинической больницы скорой медицинской помощи (2004-2019 гг) Ивакину Владимиру Евгеньевичу, главному врачу Курской областной станции переливания крови Ковалеву Алексею Павловичу за оказанную помощь в организации сбора клинического материала, а также всем пациентам и здоровым добровольцам, принявшим участие в исследовании.

Литература

1. Аметов А.С. Сахарный диабет 2 типа: проблемы и решение. 2-е издание. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 1032 с.
2. Saeedi P., Petersohn I., Salpea P., Malanda B., Karuranga S., Unwin N. et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas. *Diabetes research and clinical practice* 2019; (157): 107843. doi: A10.1016/j.diabres.2019.107843.
3. Fuchsberger C., Flannick J., Teslovich T.M., Mahajan A., Agarwala V., Gaulton K.J. et al. The genetic architecture of type 2 diabetes. *Nature* 2016; 536(7614): 41-47. doi.org/10.1038/nature18642.
4. Zaccardi F., Webb D.R., Yates T., Davies M.J. Pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus: a 90-year perspective. *Postgraduate medical journal* 2016; 92(1084): 63-69. doi: 10.1136/postgradmedj-2015-133281.
5. Азарова Ю.Э., Клёсова Е.Ю., Самгина Т.А., Сакали С.Ю., Коломоец И.И., Азарова В.А. и др. Роль полиморфных вариантов гена *СУВА* в патогенезе сахарного диабета 2 типа. *Медицинская генетика* 2019; 18(8): 37-48. doi: 10.25557/2073-7998.2019.08.37-48.
6. Rains J.L., Jain S.K. Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. *Free Radical Biology and Medicine* 2011; 50(5): 567-575. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.006.
7. Gudmundsson J., Sulem P., Steinthorsdottir V., Bergthorsson J.T., Thorleifsson G., Manolescu A. et al. Two variants on chromosome 17 confer prostate cancer risk, and the one in TCF2 protects against type 2 diabetes. *Nat Genet* 2007; 39(8): 977-983. doi: 10.1038/ng2062.
8. Miyake K., Yang W., Hara K., Yasuda K., Horikawa Y., Osawa H. et al. Construction of a prediction model for type 2 diabetes mellitus in the Japanese population based on 11 genes with strong evidence of the association. *J Hum Genet* 2009; 54(4): 236-241. doi: 10.1038/jhg.2009.17.
9. Deng X., Liu H., Nalima A.Q., Zhu J. Association of polymorphisms rs290487, rs864745, rs4430796 and rs23136 with type 2 diabetes in the Uyghur population in China. *Int J Clin Exp Pathol* 2017; 10(8): 8813-8819.
10. Edghill E.L., Bingham C., Ellard S., Hattersley A.T. Mutations in hepatocyte nuclear factor-1beta and their related phenotypes. *J Med Genet* 2006; 43(1): 84-90. doi: 10.1136/jmg.2005.032854.
11. Horikawa Y., Iwasaki N., Hara M., Furuta H., Hinokio Y., Cockburn B.N. et al. Mutation in hepatocyte nuclear factor-1-beta gene (TCF2) associated with MODY. *Nature Genet* 1997; 17(4): 384-385. doi: 10.1038/ng1297-384.
12. Lindner T.H., Njolstad P.R., Horikawa Y., Bostad L., Bell G.I., Sövik O. A novel syndrome of diabetes mellitus, renal dysfunction and genital malformation associated with a partial deletion of the pseudo-POU domain of hepatocyte nuclear factor-1-beta. *Hum Molec Genet* 1999; 8(11): 2001-2008. doi:10.1093/hmg/8.11.2001.
13. Wu C., Jin X., Tsueng G., Afrasiabi C., Su A.I. BioGPS: building your own mash-up of gene annotations and expression profiles. *Nucleic acids research* 2016; 44(D1): D313-D316. doi: 10.1093/nar/gkv1104.
14. Holmkvist J., Almgren P., Lyssenko V., Lindgren C.M., Eriksson K.F., Isomaa B. et al. Common variants in maturity-onset diabetes of the young genes and future risk of type 2 diabetes. *Diabetes*. 2008; 57(6): 1738-1744. doi: 10.2337/db06-1464.
15. Brito E.C., Lyssenko V., Renström F., Berglund G., Nilsson P.M., Groop L. et al. Previously associated type 2 diabetes variants may interact with physical activity to modify the risk of impaired glucose regulation and type 2 diabetes: a study of 16,003 Swedish adults. *Diabetes* 2009; 58(6): 1411-1418. doi: 10.2337/db08-1623.
16. Азарова Ю.Э., Клёсова Е.Ю., Сакали С.Ю., Ковалев А.П. Вклад полиморфизма rs11927381 гена *IGF2BP2* в патогенез сахарного

- диабета 2 типа. *Научные результаты биомедицинских исследований* 2020; 6(1): 9-19. doi: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-2.
17. Solé X., Guinó E., Valls J., Iniesta R., Moreno V. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics* 2006; 22(15): 1928-1929. doi: 10.1093/bioinformatics/btl1268.
 18. Lonsdale J., Thomas J., Salvatore M., Phillips R., Lo E., Shad S. et al. The genotype-tissue expression (GTEx) project. *Nature genetics* 2013; 45(6): 580-585. doi: 10.1038/ng.2653.
 19. Gaunt T.R., Shihab H.A., Hemani G., Min J.L., Woodward G., Lyttleton O. et al. Systematic identification of genetic influences on methylation across the human life course. *Genome Biology* 2016; 17(1): 1-14. doi: 10.1186/s13059-016-0926-z.
 20. Szklarczyk D., Gable A.L., Lyon D., Junge A., Wyder S., Huerta-Cepas J. et al. STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets. *Nucleic Acids Res* 2019; 47(D1): D607-D613. doi: 10.1093/nar/gky1131.
 21. Mi H., Huang X., Muruganujan A., Tang H., Mills C., Kang D. et al. PANTHER version 11: expanded annotation data from Gene Ontology and Reactome pathways, and data analysis tool enhancements. *Nucleic acids research* 2017; 45(D1): D183-D189. doi: 10.1093/nar/gkw1138.
 22. Ek J., Grarup N., Urhammer S.A., Gæde P.H., Drivsholm T., Borch-Johnsen K. et al. Studies of the variability of the hepatocyte nuclear factor-1 β (HNF-1 β /TCF2) and the dimerization cofactor of HNF-1 (DcoH/PCBD) genes in relation to type 2 diabetes mellitus and β -cell function. *Hum Mutat* 2001; 18(4): 356-357. doi: 10.1002/humu.1201.
 23. Kim E.K., Lee J.S., Cheong H.I., Chung S.S., Kwak S.H., Park K.S. Identification and functional characterization of P159L mutation in HNF1B in a family with maturity-onset diabetes of the young 5 (MODY5). *Genomics and informatics* 2014; 12(4): 240. doi: 10.5808/GI.2014.12.4.240.
 24. Chan S.C., Zhang Y., Shao A., Avdulov S., Herrera J., Aboudehen K. et al. Mechanism of fibrosis in HNF1B-related autosomal dominant tubulointerstitial kidney disease. *Journal of the American Society of Nephrology* 2018; 29(10): 2493-2509. doi: 10.1681/ASN.2018040437.
 25. Clissold R.L., Hamilton A.J., Hattersley A.T., Ellard S., Bingham C. HNF1B-associated renal and extra-renal disease—an expanding clinical spectrum. *Nature Reviews Nephrology* 2015; 11(2): 102. doi: 10.1038/nrneph.2014.232.
 26. Kanikarla-Marie P., Micinski D., Jain S.K. Hyperglycemia (high-glucose) decreases l-cysteine and glutathione levels in cultured monocytes and blood of Zucker diabetic rats. *Molecular and cellular biochemistry* 2019; 459(1-2): 151-156. doi: 10.1007/s11010-019-03558-z.
 27. Lagman M., Ly J., Saing T., Singh M.K., Tudela E.V., Morris D. et al. Investigating the causes for decreased levels of glutathione in individuals with type II diabetes. *PLoS One* 2015; 10(3): e0118436. doi: 10.1371/journal.pone.0118436.
 28. Axelsson A.S., Mahdi T., Nenonen H.A., Singh T., Hänzelmann S., Wendt A. et al. Sox5 regulates beta-cell phenotype and is reduced in type 2 diabetes. *Nature communications* 2017; 18(1): 1-16. doi: 10.1038/ncomms15652.
 29. Turner N., Kowalski G.M., Leslie S.J., Risis S., Yang C., Lee-Young R.S. et al. Distinct patterns of tissue-specific lipid accumulation during the induction of insulin resistance in mice by high-fat feeding. *Diabetologia* 2013; 56(7): 1638-1648. doi: 10.1007/s00125-013-2913-1.
 30. Corkey B.E. Diabetes: Have We Got It All Wrong?: Insulin hypersecretion and food additives: cause of obesity and diabetes?. *Diabetes care* 2016; 35(12): 2432-2437. doi: 10.2337/dc12-0825.
 31. Czech M.P. Insulin action and resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature medicine* 2017; 23(7): 804-814. doi: 10.1038/nm.4350.
- ## References
1. Ametov A.S. Saharnyj diabet 2 tipa: problemy i reshenie. 2-e izdanie [Diabetes mellitus type 2: problems and solution. The 2nd edition] M.: GEOTAR-media, 2013. (In Russ.)
 2. Saeedi P., Petersohn I., Salpea P., Malanda B., Karuranga S., Unwin N. et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas. *Diabetes research and clinical practice* 2019; (157): 107843. doi: 10.1016/j.diabres.2019.107843.
 3. Fuchsberger C., Flannick J., Teslovich T.M., Mahajan A., Agarwala V., Gaulton K.J. et al. The genetic architecture of type 2 diabetes. *Nature* 2016; 536(7614): 41-47. doi.org/10.1038/nature18642.
 4. Zaccardi F., Webb D.R., Yates T., Davies M.J. Pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus: a 90-year perspective. *Postgraduate medical journal* 2016; 92(1084): 63-69. doi: 10.1136/postgradmedj-2015-133281.
 5. Azarova Yu.E., Klyosova E.Yu., Samgina T.A., Sakali S.Yu., Kolomoets I.I., Azarova V.A. Rol' polimorfnykh variantov gena CYBA v patogeneze sakharnogo diabeta 2 tipa [The role of polymorphic variants of the CYBA gene in the pathogenesis of type 2 diabetes]. *Meditsinskaya genetika [Medical Genetics]* 2019; 18(8): 37-48. (In Russ.) doi: 10.25557/2073-7998.2019.08.37-48.
 6. Rains J.L., Jain S.K. Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. *Free Radical Biology and Medicine* 2011; 50(5): 567-575. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.006.
 7. Gudmundsson J., Sulem P., Steinthorsdottir V., Bergthorsson J.T., Thorleifsson G., Manolescu A. et al. Two variants on chromosome 17 confer prostate cancer risk, and the one in TCF2 protects against type 2 diabetes. *Nat Genet* 2007; 39(8): 977-983. doi: 10.1038/ng2062.
 8. Miyake K., Yang W., Hara K., Yasuda K., Horikawa Y., Osawa H. et al. Construction of a prediction model for type 2 diabetes mellitus in the Japanese population based on 11 genes with strong evidence of the association. *J Hum Genet* 2009; 54(4): 236-241. doi: 10.1038/jhg.2009.17.
 9. Deng X., Liu H., Nalima A.Q., Zhu J. Association of polymorphisms rs290487, rs864745, rs4430796 and rs23136 with type 2 diabetes in the Uyghur population in China. *Int J Clin Exp Pathol* 2017; 10(8): 8813-8819.
 10. Edghill E.L., Bingham C., Ellard S., Hattersley A.T. Mutations in hepatocyte nuclear factor-1beta and their related phenotypes. *J Med Genet* 2006; 43(1): 84-90. doi: 10.1136/jmg.2005.032854.
 11. Horikawa Y., Iwasaki N., Hara M., Furuta H., Hinokio Y., Cockburn B.N. et al. Mutation in hepatocyte nuclear factor-1-beta gene (TCF2) associated with MODY. *Nature Genet* 1997; 17(4): 384-385. doi: 10.1038/ng1297-384.
 12. Lindner T.H., Njolstad P.R., Horikawa Y., Bostad L., Bell G.I., Sövik O. A novel syndrome of diabetes mellitus, renal dysfunction and genital malformation associated with a partial deletion of the pseudo-POU domain of hepatocyte nuclear factor-1-beta. *Hum Molec Genet* 1999; 8(11): 2001-2008. doi:10.1093/hmg/8.11.2001.
 13. Wu C., Jin X., Tsueng G., Afrasiabi C., Su A.I. BioGPS: building your own mash-up of gene annotations and expression profiles. *Nucleic acids research* 2016; 44(D1): D313-D316. doi: 10.1093/nar/gkv1104.
 14. Holmkvist J., Almgren P., Lyssenko V., Lindgren C.M., Eriksson K.F., Isomaa B. et al. Common variants in maturity-onset diabetes of the young genes and future risk of type 2 diabetes. *Diabetes*. 2008; 57(6): 1738-1744. doi: 10.2337/db06-1464.
 15. Brito E.C., Lyssenko V., Renström F., Berglund G., Nilsson P.M., Groop L. et al. Previously associated type 2 diabetes variants may interact with physical activity to modify the risk of impaired glucose regulation and type 2 diabetes: a study of 16,003 Swedish adults. *Diabetes* 2009; 58(6): 1411-1418. doi: 10.2337/db08-1623.

16. Azarova I.E., Klyosova E.Yu., Sakali S.Yu., Kovalev A.P. Vklad polimorfizma rs11927381 gena IGF2BP2 v patogenez saharnogo diabetisa 2 tipa [Contribution of rs11927381 polymorphism of the IGF2BP2 gene to the pathogenesis of type 2 diabetes]. *Nauchnye rezul'taty biomedicinskih issledovanij [Research Results in Biomedicine]* 2020; 6(1): 9-19. (In Russ.) doi: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-2.
17. Solé X., Guinó E., Valls J., Iñiesta R., Moreno V. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics* 2006; 22(15): 1928-1929. doi: 10.1093/bioinformatics/btl268.
18. Lonsdale J., Thomas J., Salvatore M., Phillips R., Lo E., Shad S. et al. The genotype-tissue expression (GTEx) project. *Nature genetics* 2013; 45(6): 580-585. doi: 10.1038/ng.2653.
19. Gaunt T.R., Shihab H.A., Hemani G., Min J.L., Woodward G., Lyttleton O. et al. Systematic identification of genetic influences on methylation across the human life course. *Genome Biology* 2016; 17(1): 1-14. doi: 10.1186/s13059-016-0926-z.
20. Szklarczyk D., Gable A.L., Lyon D., Junge A., Wyder S., Huerta-Cepas J. et al. STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets. *Nucleic Acids Res* 2019; 47(D1): D607-D613. doi: 10.1093/nar/gky1131.
21. Mi H., Huang X., Muruganujan A., Tang H., Mills C., Kang D. et al. PANTHER version 11: expanded annotation data from Gene Ontology and Reactome pathways, and data analysis tool enhancements. *Nucleic acids research* 2017; 45(D1): D183-D189. doi: 10.1093/nar/gkw1138.
22. Ek J., Grarup N., Urhammer S.A., Gæde P.H., Drivsholm T., Borch-Johnsen K. et al. Studies of the variability of the hepatocyte nuclear factor-1 β (HNF-1 β /TCF2) and the dimerization cofactor of HNF-1 (DcoH/PCBD) genes in relation to type 2 diabetes mellitus and β -cell function. *Hum Mutat* 2001; 18(4): 356-357. doi: 10.1002/humu.1201.
23. Kim E.K., Lee J.S., Cheong H.I., Chung S.S., Kwak S.H., Park K.S. Identification and functional characterization of P159L mutation in HNF1B in a family with maturity-onset diabetes of the young 5 (MODY5). *Genomics and informatics* 2014; 12(4): 240. doi: 10.5808/GI.2014.12.4.240.
24. Chan S.C., Zhang Y., Shao A., Avdulov S., Herrera J., Aboudehen K. et al. Mechanism of fibrosis in HNF1B-related autosomal dominant tubulointerstitial kidney disease. *Journal of the American Society of Nephrology* 2018; 29(10): 2493-2509. doi: 10.1681/ASN.2018040437.
25. Clissold R.L., Hamilton A.J., Hattersley A.T., Ellard S., Bingham C. HNF1B-associated renal and extra-renal disease—an expanding clinical spectrum. *Nature Reviews Nephrology* 2015; 11(2): 102. doi: 10.1038/nrneph.2014.232.
26. Kanikarla-Marie P., Micinski D., Jain S.K. Hyperglycemia (high-glucose) decreases l-cysteine and glutathione levels in cultured monocytes and blood of Zucker diabetic rats. *Molecular and cellular biochemistry* 2019; 459(1-2): 151-156. doi: 10.1007/s11010-019-03558-z.
27. Lagman M., Ly J., Saing T., Singh M.K., Tudela E.V., Morris D. et al. Investigating the causes for decreased levels of glutathione in individuals with type II diabetes. *PLoS One* 2015; 10(3): e0118436. doi: 10.1371/journal.pone.0118436.
28. Axelsson A.S., Mahdi T., Nenonen H.A., Singh T., Hännelmann S., Wendt A. et al. Sox5 regulates beta-cell phenotype and is reduced in type 2 diabetes. *Nature communications* 2017; 18(1): 1-16. doi: 10.1038/ncomms15652.
29. Turner N., Kowalski G.M., Leslie S.J., Risis S., Yang C., Lee-Young R.S. et al. Distinct patterns of tissue-specific lipid accumulation during the induction of insulin resistance in mice by high-fat feeding. *Diabetologia* 2013; 56(7): 1638-1648. doi: 10.1007/s00125-013-2913-1.
30. Corkey B.E. Diabetes: Have We Got It All Wrong?: Insulin hypersecretion and food additives: cause of obesity and diabetes?. *Diabetes care* 2016; 35(12): 2432-2437. doi: 10.2337/dc12-0825.
31. Czech M.P. Insulin action and resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature medicine* 2017; 23(7): 804-814. doi: 10.1038/nm.4350.