

Полиморфный вариант гена *GPX2* (rs4902346) и предрасположенность к сахарному диабету 2-го типа

Азарова Ю.Э.¹, Клёсова Е.Ю.¹, Бушуева О.Ю.¹, Самгина Т.А.¹, Азарова В.А.², Конопля А.И.¹, Полоников А.В.¹

1 — ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Курск, Россия

2 — ОБУЗ «Курская городская клиническая больница скорой медицинской помощи» Комитета здравоохранения Курской области
Курск, Россия

Окислительный стресс служит важной составляющей патогенеза сахарного диабета 2 типа (СД2). Одним из ферментов антиоксидантной защиты является глутатионпероксидаза 2 (GPX2), использующая глутатион в качестве ко-субстрата для восстановления перекиси водорода H_2O_2 и обладающая наибольшей экспрессией в поджелудочной железе, – органе, имеющем непосредственное отношение к развитию диабета. Тем не менее, данные о связи GPX2 с предрасположенностью к СД2 в литературе отсутствуют.

Целью исследования стало изучение ассоциации полиморфного варианта rs4602346 (A>G) в интроне гена *GPX2* с риском развития СД2, а также его влияния на показатели редокс-гомеостаза плазмы крови.

В исследование включено 3197 неродственных индивидов славянского происхождения, в том числе 1570 пациентов с СД2 и 1609 сопоставимых по полу и возрасту здоровых добровольцев. Генотипирование полиморфизма гена *GPX2* проводили методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с дискриминацией аллелей с помощью TaqMan зондов на термоциклере CFX96 Touch Bio-Rad. Генотип G/G ассоциировался с повышенным риском развития заболевания (OR 1,41, 95%CI 1,02–1,96, $p=0,039$, рецессивная модель). Выявленная ассоциация сохранила значимость и после введения поправки на пол, возраст и индекс массы тела (OR_{adj} 1,50, 95%CI 1,04–2,16, $p_{adj}=0,03$). При раздельном сравнении больных СД2 мужчин и женщин с контролем оказалось, что установленная ассоциация rs4902346 была характерна только для мужчин (OR_{adj} 2,09, 95%CI_{adj} 1,22–3,59, $p_{adj}=0,0065$), в то время как частоты генотипов и аллелей *GPX2* больных женщин не отличались от соответствующих показателей здоровых ($p>0,05$). Оценка редокс-статуса показала увеличение содержания перекиси водорода и снижение уровня общего глутатиона в плазме больных по сравнению с контролем ($p<0,05$). Корреляционный анализ обнаружил, что уровень перекиси водорода пациентов прямо пропорционален концентрации глюкозы крови натощак. Анализ взаимосвязей между генетическими и биохимическими данными выявил, что генотип G/G rs4902346 ассоциирован со снижением содержания восстановленного глутатиона в плазме больных СД2 женщин ($p=0,0086$).

Таким образом, нами впервые выявлена ассоциация rs4902346 гена *GPX2* с развитием СД2 и показаны значительные половые различия в ассоциациях с исследованными фенотипами.

Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типа, глутатион, глутатионпероксидаза, однонуклеотидный полиморфизм, наследственная предрасположенность, оксидантный стресс.

Для цитирования: Азарова Ю.Э., Клёсова Е.Ю., Бушуева О.Ю., Самгина Т.А., Азарова В.А., Конопля А.И., Полоников А.В. Полиморфный вариант гена *GPX2* (rs4902346) и предрасположенность к сахарному диабету 2-го типа. *Медицинская генетика* 2020; 19(2): 17–27.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.02.17-27

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

Финансирование: Работа выполнена при финансовой поддержке ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России

Конфликт интересов: Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.02.2020.

Polymorphic variant in *GPX2* gene (rs4902346) and predisposition to type 2 diabetes mellitus

Azarova I.E.¹, Klyosova E.Yu.¹, Samgina T.A.¹, Bushueva O.Yu.¹, Azarova V.A.², Konoplya A.I.¹, Polonikov A.V.¹

1 — Kursk State Medical University
Kursk, Russia

2 — Kursk City Clinical Hospital for Emergency Medicine
Kursk, Russia

Oxidative stress is an important component of the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus (T2D). Glutathione peroxidase 2 is one of the antioxidant defense enzymes which uses glutathione as a co-substrate to reduce hydrogen peroxide and has the highest expression in the pancreas, an organ that is directly related to the development of diabetes. However, there is no data on the association of GPX2 with a predisposition to T2D.

The aim of the study was to investigate the association of rs4602346 (A>G) in the intron of the *GPX2* gene with a risk of T2D, as well as the effect of this SNP on blood plasma redox homeostasis.

The study included 3197 unrelated individuals of Slavic origin, including 1570 patients with T2D and 1609 age- and sex-matching healthy volunteers. *GPX2* gene polymorphism was genotyped using real-time PCR on a CFX96 Touch Bio-Rad thermal cycler. The G/G genotype was associated with an increased risk of the disease (OR 1,41, 95% CI 1,02-1,96, $P=0,039$, recessive model). The identified association retained its significance even after correction for gender, age, and body mass index (OR_{adj} 1,50, 95% CI 1,04-2,16, $P_{adj}=0,03$). Gender-stratified analysis revealed that the established association of rs4902346 was characteristic only for diabetic males (OR_{adj} 2,09, 95% CI_{adj} 1,22-3,59, $P_{adj}=0,0065$), and was not observed in diabetic females ($P>0,05$). Assessment of redox status showed an increase in the content of hydrogen peroxide and a decrease in the level of total glutathione in the plasma of patients compared with the control ($P<0,05$). A correlation analysis found that patients' hydrogen peroxide levels are directly proportional to their fasting blood glucose concentrations. An analysis of the relationships between genetic and biochemical data showed that the G/G genotype rs4902346 is associated with a decrease in the content of reduced glutathione in the plasma of female patients with T2D ($P=0,0086$).

Thus, we identified for the first time the association of rs4902346 with an increased risk of T2D and showed significant gender differences in the associations of the *GPX2* gene with the studied phenotypes.

Keywords: type 2 diabetes mellitus, glutathione, glutathione peroxidase, single nucleotide polymorphism, genetic predisposition, oxidative stress

For citation: Azarova I.E., Klyosova E.Yu., Samgina T.A., Bushueva O.Yu., Azarova V.A., Konoplya A.I., Polonikov A.V. Polymorphic variant in *GPX2* gene (rs4902346) and predisposition to type 2 diabetes mellitus. *Medical genetics* 2020; 19(2): 17-27. [In Rus].

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.02.17-27

Corresponding author: Azarova Iuliia Eduardovna, e-mail: azzzzar@yandex.ru

Funding. The study was carried out with financial support of Kursk State Medical University.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

Accepted: 20.02.2020.

Введение

Сахарный диабет по праву называют пандемией XXI века. По данным Международной диабетической федерации, за последние 20 лет число больных диабетом в мире выросло в 3 раза, со 151 млн человек в 2000 г. до 463 млн человек в 2019 г. В России более 8 млн больных, и абсолютное большинство их страдают диабетом 2 типа (СД2) [1]. Основным диагностическим критерием СД2 является хроническая гипергликемия, последствия которой включают ретинопатию с возможным развитием слепоты, нефропатию, ведущую к почечной недостаточности, и периферическую нейропатию с риском образования язв нижних конечностей и ампутации. СД2 также ассоциирован с высокой частотой атеросклеротических поражений сосудов сердца и церебральных сосудов, лежащих в основе развития макрососудистых осложнений — церебрального инсульта и ишемической болезни сердца [2]. В этой связи необходимость постижения молекулярных механизмов развития основного заболевания и его осложнений не вызывает сомнений.

СД2 — это многофакторная патология, развивающаяся в результате комбинации генетических и средовых факторов риска. Согласно базе данных Gene Cards, на сегодняшний день идентифицировано 752 кандидатных гена, связанных с патогенетически значимыми фенотипами диабета, — инсулинорезистентностью и дисфункцией бета-клеток поджелудочной железы [3]. С 2007 г. по настоящее время проведено 138 полногено-

мных ассоциативных исследований, включавших более миллиона больных СД2 и трех миллионов здоровых лиц и выявивших сотни однонуклеотидных вариантов (SNPs), связанных с риском развития заболевания [4]. Однако, абсолютное большинство SNPs находится в некодирующих последовательностях генов или межгенных областях, что значительно затрудняет биологическую интерпретацию полученных данных.

Помимо снижения чувствительности периферических тканей к инсулину и нарушения его продукции поджелудочной железой, существующая сегодня концепция патогенеза СД2 включает увеличение продукции глюкозы печенью, усиление секреции глюкагона островками Лангерганса, уменьшение синтеза гормонов желудочно-кишечного тракта инкретинов, повышение реабсорбции глюкозы почками, усиление всасывания глюкозы в кишечнике, а также повышение активности центров аппетита в гипоталамусе. Перечисленные восемь звеньев составляют так называемый «угрожающий октет» DeFronzo [5], любой компонент которого может способствовать развитию хронической гипергликемии и нарушению практически всех видов обмена. Возможным пусковым механизмом развития перечисленных нарушений является окислительный стресс, формирующийся в результате увеличения активности про- и снижения активности антиоксидантной системы. В современной литературе широко представлены исследования роли главного внутри- и вне-

клеточного антиоксиданта, глутатиона (GSH), при СД2. Так, было показано, что это заболевание связано с серьезными нарушениями в метаболизме и транспорте GSH, смещающими равновесие редокс-гомеостаза в сторону прооксидантного статуса [6,7] и опосредующими развитие диабетической нейропатии и ангиопатии. Кроме того, дефицит GSH служит самостоятельной причиной образования свободных радикалов [8,9], провоцирующих повреждение внутриклеточных сигнальных молекул и развитие инсулинорезистентности, с одной стороны, а также активацию апоптоза бета-клеток и снижение продукции инсулина поджелудочной железой, с другой. Примечательно, что положительный эффект внутривенного введения GSH на чувствительность периферических тканей к инсулину был описан ранее, чем факт ее ухудшения в отсутствие GSH [10].

Еще один аспект нарушений метаболизма GSH при СД2 связан с генетически обусловленными дефектами участвующих в его обмене ферментов — глутатион-S-трансфераз GST (осуществляющих конъюгацию GSH с активными формами кислорода и ксенобиотиками), и глутатионпероксидаз GPX (катализирующих восстановление перекиси водорода и других перекисных соединений с помощью GSH). Роль полиморфизмов генов GST M1, T1 и P1 в формировании предрасположенности к СД2 была показана нами ранее [11,12], вклад этих генов в развитие осложнений диабета, в частности, диабетической нефропатии описан другими исследователями [13]. Лечебный эффект инсулина при СД2 во многом связан с индукцией синтеза GSH и GST за счет активации PI3K/Akt/p70S6K сигнального пути [14]. И GST, и GPX требуют присутствия восстановленного GSH для эффективной нейтрализации свободно-радикальных и перекисных соединений. Окисляясь, GSH превращается в димер GSSG, и баланс в редокс-системе в значительной мере определяется способностью клеток регенерировать GSH из GSSG с затратой биохимического восстановителя NADPH под действием GPX. Следует отметить, что хроническая гипергликемия способствует образованию сорбитола из глюкозы с помощью NADPH-зависимой сорбитолдегидрогеназы, что снижает как отношение $\text{NADPH}/\text{NADP}^+$, так и GSH/GSSG, и может отрицательно сказываться на эффективности связывания активных форм кислорода GST и GPX. Снижение активности GPX при СД2 было впервые отмечено у крыс с стрептозотоцин-индуцированным диабетом [15–17]. Однако в целом имеющиеся на сегодняшний день данные о вовлеченности GPX в развитие диабета немногочисленны и противоречивы: в работах Tanaka [18] и Robertson [19] показано, что увеличение экспрессии GPX защищает бета-клетки от

повреждающего действия окислительного стресса при гипергликемии, тогда как McClung [20] описал развитие инсулинорезистентности при усилении экспрессии GPX1. Роль изоформ GPX, отличных от GPX1, в развитии диабета не известна. Учитывая высокую экспрессию GPX2 в поджелудочной железе, органе, имеющем непосредственное патогенетическое отношение к СД2, нам представлялось важным оценить связь полиморфного варианта в гене *GPX2* rs4602346 (A>G) с показателями редокс-гомеостаза плазмы крови и риском развития СД2.

Методы

В исследование было включено 1570 пациентов с СД2 (581 мужчина и 982 женщины, средний возраст $61,3 \pm 10,4$ года), получавших стационарное лечение на базе эндокринологического отделения Курской городской клинической больницы скорой медицинской помощи в период с декабря 2016 г. по октябрь 2019 г. 1609 условно здоровых добровольцев (591 мужчина и 1018 женщин, средний возраст $60,8 \pm 6,4$ года) составили группу контроля. Исследуемые группы были сопоставимы как по полу, так и по возрасту. Критерии включения и исключения в группу больных и здоровых были детально описаны нами ранее [21]. Протокол исследования одобрен Региональным этическим комитетом при Курском государственном медицинском университете (выписка из протокола №10 от 12.12.2016 г.).

Для проведения генетических исследований, у всех пациентов с СД2 и здоровых лиц на основе письменного информированного согласия проводили забор 5 мл венозной крови натощак в вакуумные пробирки Vacuette с ЭДТА в качестве антикоагулянта. Геномную ДНК выделяли колоночным методом с использованием набора QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen) на автоматической станции для экстракции белков и нуклеиновых кислот QiaCube (Qiagen), а также методом фенольно-хлороформной экстракции [22]. Генотипирование полиморфизма rs4902346 гена *GPX2* проводили методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с дискриминацией аллелей с помощью TaqMan зондов на термоблокере CFX96 Touch Bio-Rad (США). Праймеры были синтезированы компанией Синтол (Москва). Контроль качества генотипирования 10% исследованных образцов показал 100% совпадение с первоначальными результатами.

Содержание перекиси водорода H_2O_2 и глутатиона GSH/GSSG в плазме крови участников исследования определяли флуориметрическим и колориметрическими методами с использованием наборов OxiSelect

ROS/RNS Assay kit (Cell Biolabs) и OxiSelect GSH/GSSG Assay kit (Cell Biolabs), соответственно, на микропланшетном ридере Varioscan Flash (Thermo Fisher Scientific). Концентрации глюкозы, гликированного гемоглобина, триглицеридов, общего холестерина и его подфракций (липопротеинов низкой и высокой плотности) оценивали с помощью биохимических наборов фирмы Диакон-ДС на полуавтоматическом биохимическом анализаторе Ral-15.

В связи с тем, что биохимические показатели характеризовались отличным от нормального распределением (оценено тестом Колмогорова–Смирнова), эти параметры представлялись в виде медиан (Me) и интерквартильных размахов (Q1, первый – Q3, третий квартили). В связи с ненормальным распределением для статистического анализа эти параметры были подвергнуты трансформации (обратное нормальное преобразование на основе рангов). Влияние полиморфных вариантов генов на показатели редокс-гомеостаза анализировалось методом линейного регрессионного анализа с поправкой на пол, возраст и индекс массы тела. Для статистического анализа использовалась программа SNPStats [23]. Тестировали пять генетических моделей: кодоминантную, доминантную, рецессивную, сверхдоминантную и log-аддитивную. В качестве лучшей выбирали модель с наи-

меньшим численным значением критерия Акаике (AIC, Akaike information). Различия рассматривали как значимые при $p < 0,05$. Для анализа соответствия распределения частот генотипов равновесию Харди–Вайнберга и сравнения частот аллелей и генотипов между группами применяли точный тест Фишера.

Результаты

Клинико-лабораторные показатели участников исследования приведены в табл. 1. Стаж диабета у больных составил 9 лет. У 38,1% пациентов имела место отягощенная наследственность по диабету. Почти 90% больных имели избыточную массу тела или ожирение. У пациентов обнаружены характерные изменения углеводного и липидного обмена в виде гипергликемии и дислипидемии. Оценка редокс-статуса показала увеличение содержания перекиси водорода и снижение уровня GSSG/GSH в плазме больных по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Корреляционный анализ обнаружил, что уровень перекиси водорода пациентов прямо пропорционален концентрации глюкозы крови натощак ($r_s = 0,17$, $p < 0,05$).

Распределение частот генотипов соответствовало равновесию Харди–Вайнберга ($p > 0,05$). Частоты ал-

Таблица 1

Клинико-лабораторные показатели участников исследования

| Параметры сравнения | Контроль, n=1609 | Больные СД2, n=1570 | p* |
|----------------------------------------------------------|-------------------|---------------------|-------------------|
| Возраст, ср, \pm ст.от. | 60,8 \pm 6,4 | 61,3 \pm 10,4 | 0,34 |
| Мужчины, n (%) | 591 (36,7) | 581 (37,0) | 0,87 |
| Женщины, n (%) | 1018 (63,3) | 982 (63,0) | |
| Индекс массы тела (кг/м ²), ср, \pm ст.от. | 27,21 \pm 3,55 | 31,92 \pm 6,65 | 0,001 |
| Ежедневно потребляющие овощи и фрукты, n (%) | 887 (83,4%) | 500 (48,9%) | <0,0001 |
| Курящие, n (%) | 501 (31,0%) | 412 (26,1%) | 0,004 |
| Стаж диабета, Me [Q1; Q3] | - | 9,0 [3,0; 15,0] | - |
| Наследственная отягощенность, n (%) | 33 (2,1%) | 602 (38,1%) | <0,0001 |
| HbA _{1c} (%), 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 |
| H ₂ O ₂ , Me [Q1; Q3], мкмоль/л | 2,81 [2,18; 3,63] | 3,70 [2,65; 4,97] | <0,0001 |
| GSSG/GSH, Me [Q1; Q3], мкмоль/л | 1,91 [0,83; 5,41] | 1,63 [0,56; 3,79] | 0,037 |

Примечания: * выделены статистически значимые p

лелей изучаемого rs4902346 гена *GPX2* были сопоставимы с европейскими популяциями согласно данным проекта «1000 Genomes», депонированным в Ensembl [24]. В табл. 2 представлены данные по частотам гено-

типов *GPX2* у здоровых лиц и больных СД2. Генотип G/G ассоциировался с повышенным риском развития заболевания (OR 1,41, 95%CI 1,02–1,96, $p=0,039$, рецессивная модель). Выявленная ассоциация сохрани-

Таблица 2

Сравнительный анализ частот генотипов и аллелей *GPX2* у больных СД2 и здоровых лиц

| Модель | Аллель/ Генотип | Контроль, n (%) | Больные СД2, n (%) | OR (95 CI) | p | OR (95 CI)* | p* | AIC* |
|------------------|--------------------|--------------------|-----------------------|-------------------------|--------------|-------------------------|-------------|--------|
| Общая выборка | | | | | | | | |
| Кодоминантная | A/A | 955 (59,4) | 945 (60,2) | 1,00 | 0,066 | 1,00 | 0,088 | 3717,3 |
| | A/G | 589 (36,6) | 537 (34,2) | 0,92 (0,79-1,07) | | 0,97 (0,82-1,14) | | |
| | G/G | 65 (4) | 88 (5,6) | 1,37 (0,98-1,91) | | 1,48 (1,02-2,15) | | |
| Доминантная | A/A | 955 (59,4) | 945 (60,2) | 1,00 | 0,63 | 1,00 | 0,83 | 3720,1 |
| | A/G-G/G | 654 (40,6) | 625 (39,8) | 0,97 (0,84-1,11) | | 1,02 (0,87-1,19) | | |
| Рецессивная | A/A-A/G | 1544 (96) | 1482 (94,4) | 1,00 | 0,039 | 1,00 | 0,03 | 3715,4 |
| | G/G | 65 (4) | 88 (5,6) | 1,41 (1,02-1,96) | | 1,50 (1,04-2,16) | | |
| Сверхдоминантная | A/A-G/G | 1020 (63,4) | 1033 (65,8) | 1,00 | 0,16 | 1,00 | 0,46 | 3719,5 |
| | A/G | 589 (36,6) | 537 (34,2) | 0,90 (0,78-1,04) | | 0,94 (0,80-1,11) | | |
| Log-аддитивная | - | - | - | 1,02 (0,91-1,15) | 0,73 | 1,07 (0,93-1,22) | 0,33 | 3719,2 |
| | G | 22,3 | 22,7 | 1,02 (0,91-1,15) | 0,73 | - | - | |
| Мужчины | | | | | | | | |
| Кодоминантная | A/A | 340 (57,5) | 334 (57,5) | 1,00 | 0,029 | 1,00 | 0,02 | 1471,8 |
| | A/G | 226 (38,2) | 202 (34,8) | 0,91 (0,71-1,16) | | 0,92 (0,71-1,19) | | |
| | G/G | 25 (4,2) | 45 (7,8) | 1,83 (1,10-3,06) | | 2,02 (1,17-3,51) | | |
| Доминантная | A/A | 340 (57,5) | 334 (57,5) | 1,00 | 0,99 | 1,00 | 0,87 | 1477,6 |
| | A/G-G/G | 251 (42,5) | 247 (42,5) | 1,00 (0,79-1,26) | | 1,02 (0,80-1,31) | | |
| Рецессивная | A/A-A/G | 566 (95,8) | 536 (92,2) | 1,00 | 0,011 | 1,00 | 0,0065 | 1470,2 |
| | G/G | 25 (4,2) | 45 (7,8) | 1,90 (1,15-3,14) | | 2,09 (1,22-3,59) | | |
| Сверхдоминантная | A/A-G/G | 365 (61,8) | 379 (65,2) | 1,00 | 0,22 | 1,00 | 0,25 | 1476,3 |
| | A/G | 226 (38,2) | 202 (34,8) | 0,86 (0,68-1,09) | | 0,86 (0,67-1,11) | | |
| Log-аддитивная | --- | --- | --- | 1,10 (0,91-1,33) | 0,32 | 1,13 (0,92-1,38) | 0,24 | 1476,2 |
| | G | 23,4 | 25,1 | 1,10 (0,91-1,33) | 0,32 | - | - | |
| Женщины | | | | | | | | |
| Кодоминантная | A/A | 615 (60,4) | 607 (61,8) | 1,00 | 0,69 | 1,00 | 0,87 | 2056 |
| | A/G | 363 (35,7) | 333 (33,9) | 0,93 (0,77-1,12) | | 0,98 (0,78-1,23) | | |
| | G/G | 40 (3,9) | 42 (4,3) | 1,06 (0,68-1,66) | | 1,14 (0,66-1,98) | | |
| Доминантная | A/A | 615 (60,4) | 607 (61,8) | 1,00 | 0,52 | 1,00 | 0,98 | 2054,3 |
| | A/G-G/G | 403 (39,6) | 375 (38,2) | 0,94 (0,79-1,13) | | 1,00 (0,80-1,24) | | |
| Рецессивная | A/A-A/G | 978 (96,1) | 940 (95,7) | 1,00 | 0,70 | 1,00 | 0,61 | 2054 |
| | G/G | 40 (3,9) | 42 (4,3) | 1,09 (0,70-1,70) | | 1,15 (0,67-1,98) | | |
| Сверхдоминантная | A/A-G/G | 655 (64,3) | 649 (66,1) | 1,00 | 0,41 | 1,00 | 0,81 | 2054,2 |
| | A/G | 363 (35,7) | 333 (33,9) | 0,93 (0,77-1,11) | | 0,97 (0,78-1,22) | | |
| Log-аддитивная | --- | --- | --- | 0,97 (0,83-1,13) | 0,68 | 1,01 (0,84-1,22) | 0,88 | 2054,2 |
| | G | 21,8 | 21,2 | 0,97 (0,83-1,13) | 0,69 | - | - | |

Примечания:* – расчеты выполнены с поправкой на пол, возраст и индекс массы тела; AIC – критерий Акаике; выделены статистически значимые OR (95 CI) и p

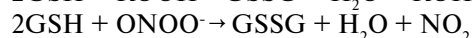
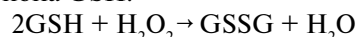
ла значимость и после введения поправки на пол, возраст и индекс массы тела (OR_{adj} 1,50, 95%CI 1,04–2,16, $p_{adj}=0,03$). При раздельном сравнении больных СД2 мужчин и женщин с контролем оказалось, что установленная ассоциация rs4902346 была характерна только для мужчин (OR_{adj} 2,09, 95%CI OR_{adj} 1,22–3,59, $p_{adj}=0,0065$), в то время как частоты генотипов и аллелей *GPX2* больных женщин не отличались от соответствующих показателей здоровых ($p>0,05$).

При анализе взаимосвязей между генетическими и биохимическими данными (табл. 3) было обнаружено, что генотип G/G rs4902346 ассоциирован со снижением содержания восстановленного GSH в плазме больных СД2 женщин ($p=0,0086$). У мужчин нами не были обнаружены статистически значимые влияния изучаемого полиморфного варианта гена *GPX2* на показатели редокс-гомеостаза плазмы крови.

Обсуждение

Семейство GPX включает в себя 8 белков антиоксидантной системы GPX1–8, кодирующихся различными генами и различающихся по тканевой локализации и субстратной специфичности. Так, из всех изоформ GPX, GPX2 характеризуется самой высокой экспрессией в поджелудочной железе (BioGPS, <http://biogps.org>), органе, занимающем центральное место в патогенезе СД2. Еще одним уникальным свойством GPX2 является способность восстанавливать не только перекись водорода и гидропероксиды липидов, но

и пероксинитрит. Донором электронов во всех перечисленных реакциях служит активный мономер глутатиона GSH:



По структуре GPX2 является гомотетрамером с молекулярной массой 76 кД, содержащим селеноцистеин в активном центре фермента (Sec⁴⁰). Атом селена образует одну ковалентную связь с атомом серы остатка цистеина в положении 46 (Cys⁴⁶) и две координационные связи с остатками глутамина (Gln⁸¹) и триптофана (Trp¹³⁶), формируя каталитический центр GPX2. Атом селена окисляется перекисью водорода до SeOH, который затем конденсируется с первой молекулой GSH с образованием воды и Se-глутатиона. Последний реагирует со второй молекулой GSH, что сопровождается регенерацией Se⁻¹ селеноцистеина и образованием димера глутатиона GSSG. Как известно, активные формы кислорода образуются в митохондриальной цепи переноса электронов при окислении глюкозы и других топливных молекул, метаболизме ксенобиотиков цитохромом P450, а также в ходе белкового фолдинга в цитоплазме и формировании дисульфидных связей в эндоплазматическом ретикулуме [25]. GPX2 существует в виде двух изоформ — митохондриальной и цитозольной, и таким образом защищает все компартменты клетки от свободнорадикальных соединений. Анализ белковой сети, образуемой GPX2 (по данным STRING) [26],

Таблица 3

Содержание восстановленного глутатиона GSH у носителей различных генотипов *GPX2*

| Генотип | Ср.±ст.ош.* | Разность (95%CI) | p |
|---------------|-------------|------------------|--------|
| Общая выборка | | | |
| A/A | 0,95±0,09 | 0,00 | 0,70 |
| A/G | 1,11±0,09 | | |
| G/G | 0,91±0,42 | | |
| Мужчины | | | |
| A/A | 0,97±0,17 | 0,00 | 0,093 |
| A/G | 0,95±0,23 | | |
| G/G | 1,63±0,35 | | |
| Женщины | | | |
| A/A | 0,95±0,11 | 0,00 | 0,0086 |
| A/G | 1,18±0,07 | | |
| G/G | 0,06±0,71 | | |

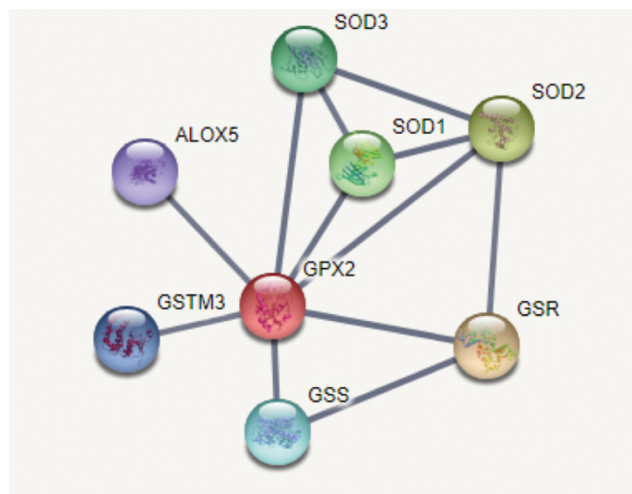
Примечание: * — приведены трансформированные показатели (обратное нормальное преобразование на основе рангов)

выявил основных партнеров фермента (рис. 1). Ими являются супероксиддисмутаза 1 (SOD1), супероксиддисмутаза 2 (SOD2), супероксиддисмутаза 3 (SOD3), глутатионредуктаза (GSR), глутатионсинтетаза (GSS), глутатион-S-трансфераза 3 (GSTM3) и арахидонат-5-липоксигеназа (ALOX5). Анализ обогащения терминами генных онтологий Gene Ontology [27] обнаружил, что шесть ферментов сети: GSR, GSS, SOD1, SOD2, SOD3 и GPX2 обеспечивают клеточный ответ на окислительный стресс ($FDR=1,61 \cdot 10^{-7}$). Совместно с арахидонат-5-липоксигеназой (ALOX5), GPX2 участвует в синтезе 5-эйкозатетраеновых кислот ($FDR=2,3 \cdot 10^{-4}$) из арахидоновой кислоты; еще одной скрытой функцией GPX2 является синтез гормонов щитовидной железы, осуществляемый в комплексе с GSR ($FDR=3,5 \cdot 10^{-3}$).

Выполненное нами исследование в выборке русских выявило взаимосвязь полиморфизма rs4602346 в интроне гена *GPX2* с повышенным риском развития СД2, тем самым впервые демонстрируя потенциальную вовлеченность гена *GPX2* в патогенез этой болезни. В литературе есть единичные исследования, посвященные изучению изоферментов GPX при ишемической болезни сердца [28], цереброваскулярном тромбозе и инсульте [29], атеросклерозе [30], опухолевых заболеваниях [31–33]. Данные о связи какой-либо изоформы GPX и СД2 отсутствуют. Проведенный нами биоинформатический анализ установил, что минорный аллель G изучаемого SNP связан со снижением экспрессии гена *GPX2* в печени, подкожной и висцеральной жировой тканях, нервной, скелетной мышечной ткани и тонком кишечнике (рис. 2), — тканях, входящих в так называемый угрожающий октет DeFronzo. В островках Лангерганса эти эффекты особенно важны ввиду исходно низкой обеспеченности бета-клеток антиоксидантами и, как следствие, их большей чувствительности, по сравнению с другими тканями, к свободным радикалам. Снижение активности GPX2 в поджелудочной железе приводит к накоплению субстратов фермента — перекиси водорода, пероксинитрита и гидроперекисей липидов. Избыток H_2O_2 снижает образование АТФ в бета-клетках и увеличивает активность АТФ-зависимых калиевых каналов, что приводит к гиперполяризации мембраны и нарушению секреции инсулина [34]. Кроме того, перекись водорода вступает в реакцию Фентона и превращается в чрезвычайно агрессивный гидроксильный радикал $\cdot OH$, обладающий мощным повреждающим действием в отношении различных макромолекул. В инсулинзависимых тканях, — жировой и мышечной, прооксидантный статус запускает стрессовые сигнальные пути с участием ядерного фактора NF- κB

и митоген-активируемой протеинкиназы p38-MAPK, которые фосфорилируют субстрат инсулинового рецептора 1 (IRS-1), выключая его из сигналинга инсулина. Избыток пероксинитрита $ONOO^-$, в свою очередь, приводит к S-нитрозилированию инсулинового рецептора, IRS-1 и протеинкиназы B Akt/PKB, в норме обеспечивающей активацию транспортеров глюкозы и их миграцию к мембране адипоцитов и миоцитов. Описанные изменения считаются ведущими механизмами развития инсулинорезистентности периферических тканей [35].

Проведенный нами стратифицированный анализ по полу установил, что ассоциация изучаемого SNP характерна только для мужчин и отсутствует у больных СД2 женщин. Ранее пол-специфические отличия в активности GPX были описаны в экспериментальной работе на крысах: активность GPX в печени самок оказалась на 80% выше таковой у самцов [36]. Экспрессия гена фермента у человека, по всей видимости, регулируется половыми гормонами: активность эритроцитарной GPX была значительно выше у женщин в пременопаузальный период, чем у мужчин, однако, эти различия нивелировались по достижении женщинами менопаузы [37–39]. Половой диморфизм был выявлен нами и при анализе взаимосвязей между генетическими и биохимическими данными: женщины-носители вариантного аллеля G rs4602346 имели более низкие значения восстановленного глута-



GPX2 – глутатионпероксидаза 2, GSR – глутатионредуктаза, GSS – глутатионсинтетаза, GSTM3 – глутатион-S-трансфераза 3, ALOX5 – арахидонат-5-липоксигеназа, SOD1 – супероксиддисмутаза 1, SOD2 – супероксиддисмутаза 2, SOD3 – супероксиддисмутаза 3

Рис. 1. Сеть функциональных партнеров GPX2.

тиона в плазме крови. Концентрация перекиси водорода у больных СД2 в нашем исследовании значимо превышала соответствующие показатели контрольной группы, тогда как содержание общего GSH у больных было ниже, чем у здоровых независимо от пола. Подобные изменения редокс-баланса были описаны Lagman M. и соавторами [40], показавшими, что концентрация восстановленного GSH в плазме и эритроцитах больных была в 2 раза ниже, а уровень окисленного GSH в 2 раза выше, чем у здоровых лиц.

Таким образом, в проведенном исследовании впервые у русских пациентов установлена ассоциация полиморфного локуса rs4902346 гена *GPX2* с повышенным риском развития СД2 у мужчин. Нами также показано влия-

ние изучаемого SNP на показатели редокс-гомеостаза: у женщин rs4902346 связан с более низким содержанием восстановленного GSH в плазме крови. Установленные ассоциации свидетельствуют о наличии полового диморфизма во взаимосвязях гена *GPX2* с исследованными фенотипами. Полученные данные открывают перспективы для дальнейшего изучения генетико-биохимических особенностей редокс-гомеостаза при СД2 и выяснения роли других полиморфных вариантов гена *GPX2* в развитии этого заболевания.

Благодарности

Авторы выражают благодарность всем пациентам эндокринологического отделения Курской городской

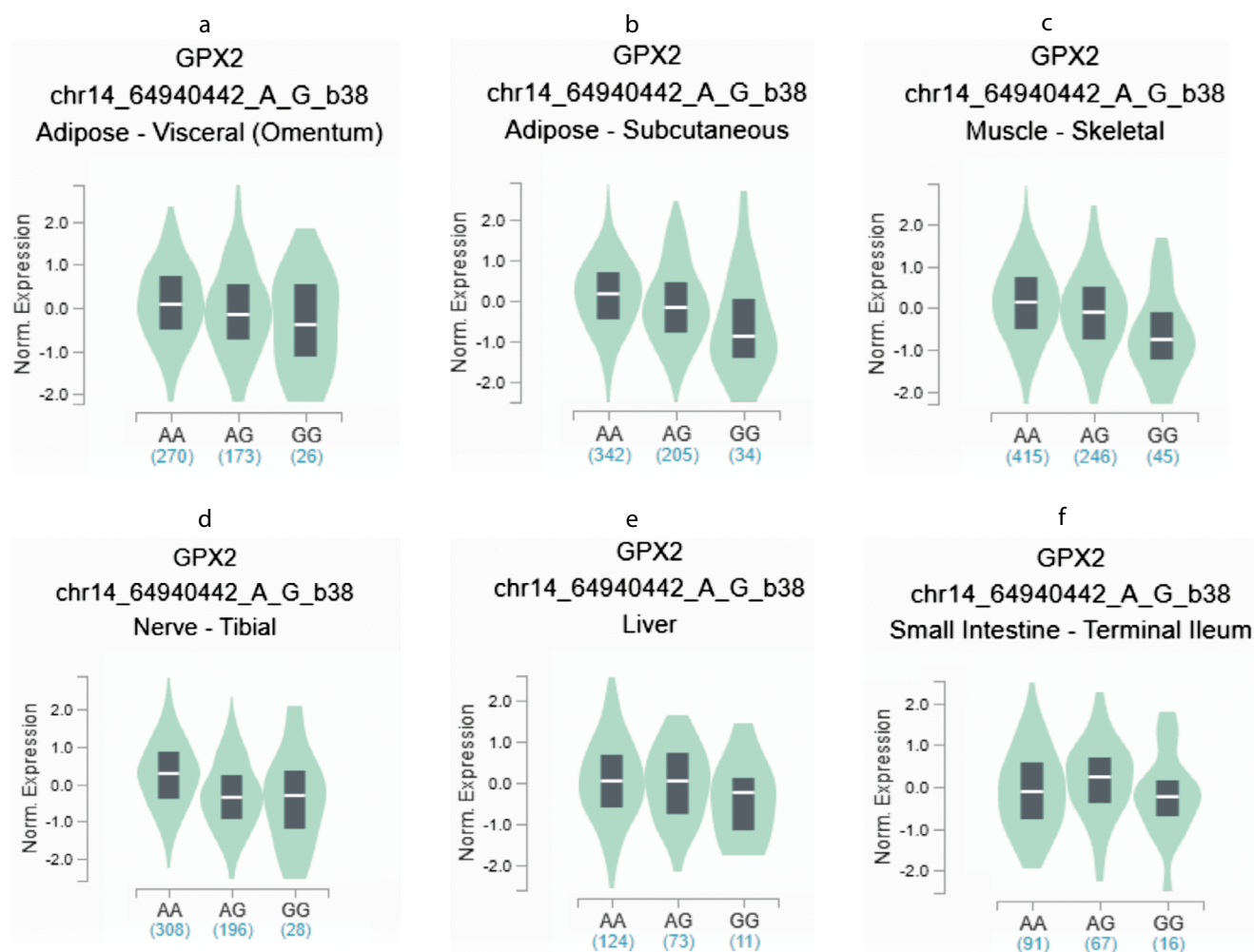


Рис. 2. Влияние генотипов *GPX2* на экспрессию гена в различных тканях.

Экспрессия *GPX2* у носителей различных генотипов rs4602346:

а – висцеральная жировая ткань; б – подкожная жировая ткань; с – скелетная мышечная ткань; д – нервная ткань; е – печень; ф – тонкий кишечник (данные GTEx Portal, <https://gtexportal.org>).

клинической больницы скорой медицинской помощи и здоровым добровольцам, принявшим участие в исследовании.

Список литературы

1. 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.
2. Аметов А.С. Сахарный диабет 2 типа: проблемы и решение. 2-е издание. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 1032 с.
3. Stelzer G., Rosen R., Plaschkes I., Zimmerman S., Twik M., Fishilevich S. et al. The GeneCards Suite: From Gene Data Mining to Disease Genome Sequence Analysis. *Current Protocols in Bioinformatics* 2019. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.genecards.org/> (дата обращения: 20.02.2020). doi: 10.1002/cpbi.5.
4. Buniello A., MacArthur J.A.L., Cerezo M., Harris L.W., Hayhurst J., Malangone C. et al. The NHGRI-EBI GWAS Catalog of published genome-wide association studies, targeted arrays and summary statistics. *Nucleic Acids Research* 2019; 47: 1005–D1012.
5. DeFronzo R.A. From the triumvirate to the „ominous octet”: a new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Clinical Diabetesology* 2009; 10(3): 101–128. doi:10.2337/db09-9028.
6. Darmaun D., Smith S.D., Sweeten S., Sager B.K., Welch S., Mauras N. Evidence for accelerated rates of glutathione utilization and glutathione depletion in adolescents with poorly controlled type 1 diabetes. *Diabetes* 2005; 54(1): 190–196. doi.org/10.2337/diabetes.54.1.190.
7. Sampathkumar R., Balasubramanyam M., Sudarslal S., Rema M., Mohan V., Balaram P. Increased glutathionylated hemoglobin (HbSSG) in type 2 diabetes subjects with microangiopathy. *Clinical biochemistry* 2005; 38(10): 892–899. doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2005.06.009.
8. Beard K. M., Shangari N., Wu B., O'brien P. J. Metabolism, not autoxidation, plays a role in α -oxoaldehyde- and reducing sugar-induced erythrocyte GSH depletion: relevance for diabetes mellitus. *Molecular and cellular biochemistry* 2003; 252(1-2): 331–338. doi.org/10.1023/A:1025544309616.
9. Januel C., Fay L.B., Ruggiero D., Lagarde M., Véricel E. et al. Covalent coupling of reduced glutathione with ribose: loss of co-substrate ability to glutathione peroxidase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects* 2003; 1620(1-3): 125–132. doi.org/10.1016/S0304-4165(02)00525-1.
10. De Mattia G., Bravi M.C., Laurenti O., Cassone-Faldetta M., Armiento A., Ferri C. et al. Influence of reduced glutathione infusion on glucose metabolism in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism* 1998; 47(8): 993–997. doi.org/10.1016/S0026-0495(98)90357-2.
11. Азарова Ю.Э., Конопля А.И., Полоников А.В. Полиморфизм генов глутатион S-трансфераз и предрасположенность к сахарному диабету 2 типа у жителей Центрального Черноземья. *Медицинская генетика* 2017; 16(4): 29–34.
12. Azarova I., Bushueva O., Konoplya A., Polonikov A. Glutathione S-transferase genes and the risk of type 2 diabetes mellitus: Role of sexual dimorphism, gene–gene and gene–smoking interactions in disease susceptibility. *Journal of diabetes* 2018; 10(5): 398–407. doi.org/10.1111/1753-0407.12623.
13. Tesaro M., Nisticò S., Noce A., Tarantino A., Marrone G., Costa A. et al. The possible role of glutathione-S-transferase activity in diabetic nephropathy. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2015; 28(1): 129–133. doi.org/10.1177/0394632015572564.
14. Kim J.H., Moon M.K., Kim S.W., Shin H.D., Hwang Y.H., Ahn C. et al. Glutathione S-Transferase M1 Gene Polymorphism is Associated with Type 2 Diabetic Nephropathy. *J Korean Diabetes Assoc* 2005; 29(4): 315.
15. Awasthi Y.C., Sharma R., Cheng J.Z., Yang Y., Sharma A., Singhal S.S. et al. Role of 4-hydroxynonenal in stress-mediated apoptosis signaling. *Molecular aspects of medicine* 2003; 24(4-5): 219–230. doi.org/10.1016/S0098-2997(03)00017-7.
16. Ghosh S., Rodrigues B., Ren J. Rat models of cardiac insulin resistance. *In Vascular Biology Protocols* 2007; 139:113–143. doi.org/10.1007/978-1-59745-571-8_7.
17. Mastrocola R., Restivo F., Vercellinato I., Danni O., Brignardello E., Aragno M. et al. Oxidative and nitrosative stress in brain mitochondria of diabetic rats. *Journal of Endocrinology* 2005; 187(1): 37–44. doi.org/10.1677/joe.1.06269.
18. Tanaka Y., Tran P.O., Harmon J., Robertson R.P. A role for glutathione peroxidase in protecting pancreatic beta cells against oxidative stress in a model of glucose toxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 12363–12368. doi.org/10.1073/pnas.192445199.
19. Robertson R.P., Harmon J., Tran P.O., Tanaka Y., Takahashi H. Glucose toxicity in beta cells: type 2 diabetes, good radicals gone bad, and the glutathione connection. *Diabetes* 2003; 52: 581–587. doi.org/10.2337/diabetes.52.3.581.
20. McClung J.P., Roneker C.A., Mu W., Lisk D.J., Langlais P., Liu F. et al. Development of insulin resistance and obesity in mice overexpressing cellular glutathione peroxidase. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2004; 101(24): 8852–8857. doi.org/10.1073/pnas.0308096101.
21. Азарова Ю.Э., Клёсова Е.Ю., Самгина Т.А., Сакали С.Ю., Коломеев 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.org. 10.25557/2073-7998.2019.08.37-48.
22. Mathew C.G.P. The isolation of high molecular weight eukaryotic DNA. *In Nucleic Acids* 1984; (2): 31–34. doi.org/10.1385/0-89603-064-4:31.
23. 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.org/10.1093/bioinformatics/btl268.
24. Cunningham F., Achuthan P., Akanni W., Allen J.M., Amode R., Armean I. et al. Ensembl 2019. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.ensembl.org> (дата обращения: 20.02.2020). doi:10.1093/nar/gky1113.
25. Chang I.W., Lin V.C.H., Hung C.H., Wang H.P., Lin Y.Y., Wu W.J. et al. GPX2 underexpression indicates poor prognosis in patients with urothelial carcinomas of the upper urinary tract and urinary bladder. *World journal of urology* 2015; 33(11): 1777–1789. doi.org/10.1007/s00345-015-1522-7.
26. 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: 607–613. doi.org/10.1093/nar/gky1131.
27. 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; 45:183–D189. doi.org/10.1093/nar/gkw1138.
28. Blankenberg S., Barbaux S., Tiret L. Adhesion molecules and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2003; 170(2): 191–203. doi.org/10.1016/S0021-9150(03)00097-2.
29. Ramprasath T., Murugan P.S., Prabakaran A.D., Gomathi P., Rathinavel A., Selvam G.S. Potential risk modifications of GSTT1, GSTM1 and GSTP1 (glutathione-S-transferases) variants and their association

- to CAD in patients with type-2 diabetes *Biochem. Biophys. Res. Commun* 2011; 407: 49–53. doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.02.097.
30. Seiler A., Schneider M., Förster H., Roth S., Wirth E. K., Culmsee C. et al. Glutathione peroxidase 4 senses and translates oxidative stress into 12/15-lipoxygenase dependent- and AIF-mediated cell death. *Cell metabolism* 2008; 8(3):237–248. doi.org/10.1016/j.cmet.2008.07.005.
 31. Florian S., Krehl S., Loewinger M., Kipp A., Banning A., Esworthy S. et al. Loss of GPx2 increases apoptosis, mitosis, and GPx1 expression in the intestine of mice. *Free Radical Biology and Medicine* 2010; 49(11): 1694–1702. doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.08.029.
 32. Suzuki S., Pitchakarn P., Ogawa K., Naiki-Ito A., Chewonarin T., Punfa W. et al. Expression of glutathione peroxidase 2 is associated with not only early hepatocarcinogenesis but also late stage metastasis. *Toxicology* 2013; 311(3): 115–123. doi.org/10.1016/j.tox.2013.07.005.
 33. Naiki T., Naiki-Ito A., Asamoto M., Kawai N., Tozawa K., Etani T. et al. GPX2 overexpression is involved in cell proliferation and prognosis of castration-resistant prostate cancer. *Carcinogenesis* 2014; 35(9): 1962–1967. doi.org/10.1093/carcin/bgu048.
 34. Freeman M.L. Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. Practice guidelines in acute pancreatitis. *American journal of gastroenterology* 2006; 101(10): 2379–2400.
 35. Yasukawa T., Tokunaga E., Ota H., Sugita H., Martyn J.J., Kaneki M. S-nitrosylation-dependent inactivation of Akt/protein kinase B in insulin resistance. *Journal of Biological Chemistry* 2005; 280(9): 7511–7518.
 36. Pinto R.E., Bartley W. The effect of age and sex on glutathione reductase and glutathione peroxidase activities and on aerobic glutathione oxidation in rat liver homogenates. *Biochemical Journal* 1969; 112(1): 109–115. doi.org/10.1042/bj1120109.
 37. Massafra C., Gioia D., De Felice C., Muscettola M., Longini M., Buonocore G. Gender-related differences in erythrocyte glutathione peroxidase activity in healthy subjects. *Clinical endocrinology* 2002; 57(5): 663–667. doi.org/10.1046/j.1365-2265.2002.01657.x.
 38. Azevedo R.B., Lacava Z.G.M., Miyasaka C.K., Chaves S.B., Curi R. Regulation of antioxidant enzyme activities in male and female rat macrophages by sex steroids. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2001; 34(5): 683–687. doi.org/10.1590/S0100-879X2001000500018.
 39. Chainy G.B.N., Samantaray S., Samanta L. Testosterone-induced changes in testicular antioxidant system. *Andrologia* 1997; 29(6): 343–349. doi.org/10.1111/j.1439-0272.1997.tb00328.x.
 40. 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.
- lished genome-wide association studies, targeted arrays and summary statistics. *Nucleic Acids Research* 2019; 47:1005–D1012.
5. DeFronzo R.A. From the triumvirate to the „ominous octet”: a new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Clinical Diabetesology* 2009; 10(3): 101–128. doi:10.2337/db09-9028.
 6. Darmaun D., Smith S.D., Sweeten S., Sager B.K., Welch S., Mauras N. Evidence for accelerated rates of glutathione utilization and glutathione depletion in adolescents with poorly controlled type 1 diabetes. *Diabetes* 2005; 54(1): 190–196. doi.org/10.2337/diabetes.54.1.190.
 7. Sampathkumar R., Balasubramanyam M., Sudarslal S., Rema M., Mohan V., Balaran P. Increased glutathionylated hemoglobin (HbSSG) in type 2 diabetes subjects with microangiopathy. *Clinical biochemistry* 2005; 38(10): 892–899. doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2005.06.009.
 8. Beard K. M., Shangari N., Wu B., O'brien P. J. Metabolism, not autoxidation, plays a role in α -oxoaldehyde- and reducing sugar-induced erythrocyte GSH depletion: relevance for diabetes mellitus. *Molecular and cellular biochemistry* 2003; 252(1-2): 331–338. doi.org/10.1023/A:1025544309616.
 9. Januel C., Fay L.B., Ruggiero D., Lagarde M., Véricel E. et al. Covalent coupling of reduced glutathione with ribose: loss of co-substrate ability to glutathione peroxidase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects* 2003; 1620(1-3): 125–132. doi.org/10.1016/S0304-4165(02)00525-1.
 10. De Mattia G., Bravi M.C., Laurenti O., Cassone-Faldetta M., Armiento A., Ferri C. et al. Influence of reduced glutathione infusion on glucose metabolism in patients with non—insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism* 1998; 47(8): 993–997. doi.org/10.1016/S0026-0495(98)90357-2.
 11. Азарова Ю.Э., Конопля А.И., Полоников А.В. Полиморфизм генов глутатион S-трансферазы и предрасположенность к сахарному диабету 2 типа у жителей Центрального Черноземья. *Медицинская генетика* 2017; 16(4): 29–34.
 12. Azarova I., Bushueva O., Konoplya A., Polonikov A. Glutathione S-transferase genes and the risk of type 2 diabetes mellitus: Role of sexual dimorphism, gene—gene and gene—smoking interactions in disease susceptibility. *Journal of diabetes* 2018; 10(5): 398–407. doi.org/10.1111/1753-0407.12623.
 13. Tesaro M., Nisticò S., Noce A., Tarantino A., Marrone G., Costa A. et al. The possible role of glutathione-S-transferase activity in diabetic nephropathy. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2015; 28(1): 129–133. doi.org/10.1177/0394632015572564.
 14. Kim J.H., Moon M.K., Kim S.W., Shin H.D., Hwang Y.H., Ahn C. et al. Glutathione S-Transferase M1 Gene Polymorphism is Associated with Type 2 Diabetic Nephropathy. *J Korean Diabetes Assoc* 2005; 29(4): 315.
 15. Awasthi Y.C., Sharma R., Cheng J.Z., Yang Y., Sharma A., Singhal S.S. et al. Role of 4-hydroxynonenal in stress-mediated apoptosis signaling. *Molecular aspects of medicine* 2003; 24(4-5): 219–230. doi.org/10.1016/S0098-2997(03)00017-7.
 16. Ghosh S., Rodrigues B., Ren J. Rat models of cardiac insulin resistance. In *Vascular Biology Protocols* 2007; 139:113–143. doi.org/10.1007/978-1-59745-571-8_7.
 17. Mastrocola R., Restivo F., Vercellinatto I., Danni O., Brignardello E., Aragno M. et al. Oxidative and nitrosative stress in brain mitochondria of diabetic rats. *Journal of Endocrinology* 2005; 187(1): 37–44. doi.org/10.1677/joe.1.06269.
 18. Tanaka Y., Tran P.O., Harmon J., Robertson R.P. A role for glutathione peroxidase in protecting pancreatic beta cells against oxidative stress in a model of glucose toxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 12363–12368. doi.org/10.1073/pnas.192445199.
 19. Robertson R.P., Harmon J., Tran P.O., Tanaka Y., Takahashi H. Glucose toxicity in beta cells: type 2 diabetes, good radicals gone

References

1. 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.
2. Ametov A.S. Diabetes mellitus type 2: problems and solution. The 2nd edition. M.: GEOTAR-media, 2013. (In Russ.)
3. Stelzer G., Rosen R., Plaschkes I., Zimmerman S., Twik M., Fishilevich S. et al. The GeneCards Suite: From Gene Data Mining to Disease Genome Sequence Analysis. *Current Protocols in Bioinformatics* 2019. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.genecards.org/> (дата обращения: 20.02.2020). doi: 10.1002/cpbi.5.
4. Buniello A., MacArthur J.A.L., Cerezo M., Harris L.W., Hayhurst J., Malangone C. et al. The NHGRI-EBI GWAS Catalog of pub-

- bad, and the glutathione connection. *Diabetes* 2003; 52: 581–587. doi.org/10.2337/diabetes.52.3.581.
20. McClung J.P., Roneker C.A., Mu W., Lisk D.J., Langlais P., Liu F. et al. Development of insulin resistance and obesity in mice overexpressing cellular glutathione peroxidase. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2004; 101(24): 8852–8857. doi.org/10.1073/pnas.0308096101
 21. Azarova Yu.E., Klyosova E.Yu., Samgina T.A., Sakali S.Yu., Kolo-moets II, Azarova V.A. The role of polymorphic variants of the CY-BA gene in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Medical Genetics* 2019; 18 (8):37–48. (In Russ.) doi.org. 10.25557/2073-7998.2019.08.37-48
 22. Mathew C.G.P. The isolation of high molecular weight eukaryotic DNA. In *Nucleic Acids* 1984; (2): 31–34. doi.org/10.1385/0-89603-064-4:31.
 23. 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.org/10.1093/bioinformatics/btl268.
 24. Cunningham F., Achuthan P., Akanni W., Allen J.M., Amode R., Armean I. et al. Ensembl 2019. [Электронный ресурс]. Режим до-ступа: <https://www.ensembl.org> (дата обращения: 20.02.2020). doi:10.1093/nar/gky1113.
 25. Chang I.W., Lin V.C.H., Hung C.H., Wang H.P., Lin Y.Y., Wu W.J. et al. GPX2 underexpression indicates poor prognosis in patients with urothelial carcinomas of the upper urinary tract and urinary bladder. *World journal of urology* 2015; 33(11): 1777–1789. doi.org/10.1007/s00345-015-1522-7.
 26. 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: 607–613. doi.org/10.1093/nar/gky1131.
 27. 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; 45:183–D189. doi.org/10.1093/nar/gkw1138.
 28. Blankenberg S., Barbaux S., Tiret L. Adhesion molecules and ath-erosclerosis. *Atherosclerosis* 2003; 170(2): 191–203. doi.org/10.1016/S0021-9150(03)00097-2.
 29. Ramprasath T., Murugan P.S., Prabakaran A.D., Gomathi P., Rathina-vel A., Selvam G.S. Potential risk modifications of GSTT1, GSTM1 and GSTP1 (glutathione-S-transferases) variants and their association to CAD in patients with type-2 diabetes *Biochem. Biophys. Res. Commun* 2011; 407: 49–53. doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.02.097.
 30. Seiler A., Schneider M., Förster H., Roth S., Wirth E. K., Culmsee C. et al. Glutathione peroxidase 4 senses and translates oxidative stress into 12/15-lipoxygenase dependent- and AIF-mediated cell death. *Cell metabolism* 2008; 8(3):237–248. doi.org/10.1016/j.cmet.2008.07.005.
 31. Florian S., Krehl S., Loewinger M., Kipp A., Banning A., Esworthy S. et al. Loss of GPx2 increases apoptosis, mitosis, and GPx1 expres-sion in the intestine of mice. *Free Radical Biology and Medicine* 2010; 49(11): 1694–1702. doi.org/10.1016/j.freerad-biomed.2010.08.029.
 32. Suzuki S., Pitchakarn P., Ogawa K., Naiki-Ito A., Chewonarin T., Punfa W. et al. Expression of glutathione peroxidase 2 is associated with not only early hepatocarcinogenesis but also late stage metastasis. *Toxicology* 2013; 311(3): 115–123. doi.org/10.1016/j.tox.2013.07.005.
 33. Naiki T., Naiki-Ito A., Asamoto M., Kawai N., Tozawa K., Etani T. et al. GPX2 overexpression is involved in cell proliferation and prog-nosis of castration-resistant prostate cancer. *Carcinogenesis* 2014; 35(9): 1962–1967. doi.org/10.1093/carcin/bgu048.
 34. Freeman M.L. Practice Parameters Committee of the American Col-lege of Gastroenterology. Practice guidelines in acute pancreatitis. *American journal of gastroenterology* 2006; 101(10): 2379–2400.
 35. Yasukawa T., Tokunaga E., Ota H., Sugita H., Martyn J.J., Kaneki M. S-nitrosylation-dependent inactivation of Akt/protein kinase B in insulin resistance. *Journal of Biological Chemistry* 2005; 280(9): 7511–7518.
 36. Pinto R.E., Bartley W. The effect of age and sex on glutathione reductase and glutathione peroxidase activities and on aerobic glutathione oxidation in rat liver homogenates. *Biochemical Journal* 1969; 112(1): 109–115. doi.org/10.1042/bj1120109.
 37. Massafra C., Gioia D., De Felice C., Muscettola M., Longini M., Buonocore G. Gender-related differences in erythrocyte glutathione peroxidase activity in healthy subjects. *Clinical endocrinology* 2002; 57(5): 663–667. doi.org/10.1046/j.1365-2265.2002.01657.x.
 38. Azevedo R.B., Lacava Z.G.M., Miyasaka C.K., Chaves S.B., Curi R. Regulation of antioxidant enzyme activities in male and female rat macrophages by sex steroids. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2001; 34(5): 683–687. doi.org/10.1590/S0100-879X2001000500018.
 39. Chainy G.B.N., Samantaray S., Samanta L. Testosterone-induced changes in testicular antioxidant system. *Andrologia* 1997; 29(6): 343–349. doi.org/10.1111/j.1439-0272.1997.tb00328.x.
 40. 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.