

Роль полиморфных вариантов гена *СУВА* в патогенезе сахарного диабета 2 типа

Азарова Ю.Э.¹, Клёсова Е.Ю.¹, Самгина Т.А.¹, Сакали С.Ю.²,
Коломоец И.И.¹, Азарова В.А.³, Конопля А.И.¹, Полоников А.В.¹

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

2 — ОБУЗ «Курская городская больница №6» Комитета здравоохранения Курской области
305022 г. Курск, ул. Союзная, 30

3 — ОБУЗ «Курская городская клиническая больница скорой медицинской помощи» Комитета здравоохранения Курской области
305016 г. Курск, ул. Пирогова, 14

Нарушения редокс-гомеостаза играют ключевую роль в развитии сахарного диабета 2 типа (СД2). Главным эндогенным источником супероксид-радикала является НАДФН-оксидаза, одной из субъединиц которой служит легкая цепь цитохрома b-245, *СУВА*. Цель исследования – изучить ассоциации полиморфизмов rs7195830 (G>A), rs8854 (C>T), rs9932581 (C>T) и rs4673 (G>A) гена *СУВА* с риском развития СД2.

В исследование включено 1024 больных СД2 (средний возраст 61,5±7,3 года) и 1034 практически здоровых добровольца, сопоставимых по полу и возрасту с группой пациентов. Генотипирование полиморфизмов гена *СУВА* проводили с использованием технологии iPLEX на геномном времяпролетном масс-спектрометре MassArray Analyzer 4 (Agena Bioscience). Генотип A/A гена *СУВА* (rs4673, G>A) ассоциировался с повышенным риском развития заболевания (OR 1,49, 95%CI 1,11-1,99, p=0,0074, рецессивная модель). Выявленная ассоциация сохранила значимость и после введения поправки на пол, возраст и индекс массы тела (OR_{adj} 1,51, 95%CI 1,09-2,09, p_{adj}=0,014). При раздельном сравнении больных СД2 мужчин и женщин с контролем оказалось, что установленная ассоциация rs4673 была характерна только для женщин (OR_{adj} 1,60, 95%CI_{adj} 1,04-2,46, p_{adj}=0,032). Больные СД2 имели значимо более высокое содержание перекиси водорода в плазме крови по сравнению с контрольной группой (p<0,05) вне зависимости от пола, однако ассоциация генотипа A/A rs4673 с повышением содержания H₂O₂ в плазме в среднем на 0,77 ммоль/л (p=0,044) была обнаружена только в подгруппе мужчин. Генотип T/T rs9932581 был ассоциирован с повышением уровня гликированного гемоглобина в среднем на 2,71% (p=0,042) в общей группе пациентов с СД2, а также с повышением того же показателя в среднем на 4,44% (p=0,03) в подгруппе больных СД2 женщин. В подгруппе мужчин отмечена ассоциация генотипа C/T rs9932581 с увеличением доли HbA1c в среднем на 0,61% (p=0,018) и с повышением уровня глюкозы крови в среднем на 1,06 ммоль/л (p=0,029). Связь уровня глюкозы натощак была установлена и с генотипом A/A rs7195830, у носителей которого концентрация глюкозы была в среднем на 1,17 ммоль/л выше, чем у гомозигот по референсному аллелю (p=0,022). Установленные ассоциации свидетельствуют о наличии полового диморфизма во взаимосвязях полиморфизмов *СУВА* с биохимическими показателями и статусом болезни.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, НАДФН-оксидаза, цитохром b-245, однонуклеотидный полиморфизм, наследственная предрасположенность, оксидантный стресс

Для цитирования: Азарова Ю.Э., Клёсова Е.Ю., Самгина Т.А., Сакали С.Ю., Коломоец И.И., Азарова В.А., Конопля А.И., Полоников А.В. 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

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: 24.08.2019

Role of CYBA gene polymorphisms in pathogenesis of type 2 diabetes mellitusAzarova I.E.¹, Klyosova E.Yu.¹, Samgina T.A.¹, Sakali S.Yu.², Kolomoets I.I.¹, Azarova V.A.³, Konoplya A.I.¹, Polonikov A.V.¹1 — Kursk State Medical University
Kursk, Russia2 — Kursk City Hospital №6
Kursk, Russia3 — Kursk City Clinical Hospital for Emergency Medicine
Kursk, Russia

Impairments of redox homeostasis play a key role in the development of type 2 diabetes mellitus (T2D). The main endogenous source of the superoxide radical is NADPH oxidase, one of the subunits of which is the light chain of cytochrome b-245, CYBA.

The aim of the study was to study the associations of cytochrome b-245 alpha chain gene polymorphisms rs7195830 (G>A), rs8854 (C>T), rs9932581 (C>T) and rs4673 (G>A) with a risk of developing T2D.

The study included 1022 patients with T2D (average age 61,1 ± 7,2 years) and 1064 sex-and age-matched healthy volunteers. Genotyping of CYBA gene polymorphisms was performed using iPLEX technology on a MassArray Analyzer 4 genome time-of-flight mass spectrometer (Agena Bioscience).

The CYBA gene A/A genotype (rs4673, G>A) was associated with an increased risk of developing the disease (OR 1,49, 95%CI 1,11-1,99, P=0,0074, recessive model). The identified association remained significant even after the adjustment for gender, age, and body mass index (OR_{adj} 1,51, 95%CI 1,09-2,09, p_{adj}=0,014). Gender-stratified analysis revealed that the established association rs4673 was characteristic only for females (OR_{adj} 1,60, 95% CI_{adj} 1,04-2,46, p_{adj} = 0,032). Patients with T2D had a significantly higher level of hydrogen peroxide in blood plasma compared with the control group (p<0,05), regardless of gender, however, the relationship between the A/A genotype rs4673 with the increase in the content of H₂O₂ in plasma by 0,77 mmol/L (p = 0,044) was found only in males. The T/T genotype rs9932581 was associated with an increase in glycated hemoglobin level of 2,71% (p = 0,042) in the general group of patients with T2D, as well as with an increase in the same indicator by 4,44% (p = 0,03) among females. The association of the C/T genotype rs9932581 with an increase in the proportion of HbA1c by 0,61% (p = 0,018) and with an increase in blood glucose level by 1,06 mmol/L (p = 0,029) was noted exclusively in males. The association of fasting blood glucose level was also established with genotype A/A rs7195830, in which carriers the glucose concentration was 1.17 mmol/L higher than in homozygotes for the reference allele (P = 0,022).

Keywords: type 2 diabetes mellitus, NADPH oxidase, cytochrome b-245, single nucleotide polymorphism, genetic predisposition, oxidative stress

For citation: Azarova I.E., Klyosova E.Yu., Samgina T.A., Sakali S.Yu., Kolomoets I.I., Azarova V.A., Konoplya A.I., Polonikov A.V. Role of CYBA gene polymorphisms in pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Medical genetics* 2019; 18(8): 37-48. [In Rus]

DOI: 10.25557/2073-7998.2019.08.37-48

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

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

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

Accepted: 24.08.2019

Введение

Всемирная организация здравоохранения в своем глобальном докладе о ситуации в области неинфекционных заболеваний от 2014 г. определила сахарный диабет, в первую очередь 2 типа (СД2), как одну из наиболее опасных неинфекционных эпидемий XXI века [1]. Это связано с тем, что заболеваемость СД2 неуклонно растет во всем мире, охватив в 2017 г каждого 11-го жителя планеты, что составляет почти 9% населения земного шара [2]. Согласно Российскому диабетическому регистру, в нашей стране число больных СД2 превышает 4,24 млн человек и продолжает расти [3].

Генетическая основа СД2 не вызывает сомнений и была подтверждена множеством крупных полногеномных и клинических исследований [4,5]. Важной составляющей патогенеза заболевания является окислительный стресс, развивающийся в результате избыточного образования активных форм кислорода (АФК) и снижения антиоксидантной защиты. В отечественных и зарубежных работах последних лет показано, что гены оксидантных и антиоксидантных ферментов, обеспечивающих контроль клеточного редокс-гомеостаза, являются важными детерминантами развития СД2 и его осложнений [6,7]. В частности, были установлены ассоциации полиморфных вариантов отдельных генов ферментов антиоксидантной системы (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатион-S-трансфераза, глу-

номных и клинических исследований [4,5]. Важной составляющей патогенеза заболевания является окислительный стресс, развивающийся в результате избыточного образования активных форм кислорода (АФК) и снижения антиоксидантной защиты. В отечественных и зарубежных работах последних лет показано, что гены оксидантных и антиоксидантных ферментов, обеспечивающих контроль клеточного редокс-гомеостаза, являются важными детерминантами развития СД2 и его осложнений [6,7]. В частности, были установлены ассоциации полиморфных вариантов отдельных генов ферментов антиоксидантной системы (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатион-S-трансфераза, глу-

татионпероксидазы, глутатионредуктазы) с уменьшением их активности и различными фенотипами СД2 [8,9]. Генетически детерминированное снижение антиоксидантной защиты усугубляется активацией прооксидантных ферментов, таких как НАДФН-оксидаза с субъединицами *СУВА*, *СУВВ*, *NCF1*, *NCF2*, *NCF4*, активатор НАДФН-оксидазы 1 (*NOXA1*), организатор НАДФН-оксидазы 1 (*NOXO1*) и/или их молекулярных включателей-выключателей *RAC1* и *RAC2*, обеспечивающих образование супероксид-радикалов [10]. Важным АФК-генерирующим семейством являются также NO-синтазы (*NOS1,2,3*) и миелопероксидаза (*MPO*), участие которых в формировании предрасположенности к СД2 было показано в ряде работ [8,11,12].

Повышение уровня АФК в клетке увеличивает расход универсального антиоксиданта восстановленного глутатиона *GSH* с последующим его превращением в окисленную форму *GSSG*. Регенерация мономера *GSH* из димера *GSSG* возможна при наличии достаточного количества биохимического восстановителя НАДФН·Н⁺. Следует отметить, что при диабетической гипергликемии уровень НАДФН·Н⁺ в клетках снижается из-за увеличения его потребления в полиоловом пути метаболизма глюкозы и одновременного уменьшения скорости его образования в пентозофосфатном пути, ключевой фермент которого, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, ингибируется в присутствии супероксид-радикала. Усиленное превращение сорбитола во фруктозу под действием НАД⁺-зависимой сорбитолдегидрогеназы снижает отношение НАД⁺/НАДН·Н⁺ в клетке, что приводит к ингибированию глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, накоплению глицеральдегид-3-фосфата и его превращению в диацилглицерол, известный аллостерический активатор протеинкиназы *C*. Этот фермент, совместно с конечными продуктами гликирования (*AGEs*), служит индуктором НАДФН-оксидазы, одного из главных источников супероксид-радикала [13,14]. Повышенная активность прооксидантных ферментов приводит к истощению глутатионового пула и накоплению его метаболически неактивной димерной формы, что само по себе является неблагоприятным фактором, запускающим глутатионилирование целого ряда ферментов и изменение их активности. Так, глутатионилирование NO-синтазы приводит к переключению фермента с синтеза NO на генерацию АФК (эффект инь-янь), способствуя развитию окислительного стресса с повреждением клеток и тканей [15]. При этом островки Лангерганса поджелудочной железы оказываются более уязвимыми по сравнению с другими тканями, поскольку, с одной стороны, в них понижена экспрессия антиоксидантных ферментов, а с другой стороны,

АФК, накапливаясь, подавляют экспрессию главного транскрипционного фактора образования и дифференцировки β-клеток *PDX-1* и активатора транскрипции гена инсулина *MafA* [13]. Это приводит к усилению апоптоза и снижению количества инсулин-продуцирующих β-клеток [16]. Кроме того, супероксид-радикал активирует экспрессию митохондриального белка-разобшителя 2 (*UCP2*), увеличивающего проницаемость внутренней мембраны митохондрий для протонов, снижающего эффективность образования АТФ в ходе окислительного фосфорилирования и таким образом подавляющего глюкозостимулированную секрецию инсулина [17,18]. Следует отметить тот факт, что супероксид-радикал также активирует ядерный фактор κB (*NF-κB*), стимулирующий экспрессию индуцибельного фермента NO синтазы (*iNOS*). Это, в свою очередь, приводит к усилению выработки NO, который мгновенно реагирует с супероксид-радикалом, превращаясь в пероксинитрит *ONOO⁻*. Последний оказывает токсическое действие на клетки, запуская нитрование белков и перекисное окисление липидов [17,18].

Еще один аспект действия АФК заключается в индукции экспрессии различных факторов роста, цитокинов и гормонов, таких как эндотелин-1 и ангиотензин-11, связывающихся с рецепторами β- и δ-изоформ протеинкиназы *C*. Активация последней увеличивает фосфорилирование сериновых и треониновых остатков β-субъединиц инсулинового рецептора с последующим торможением фосфорилирования тирозиновых остатков субстрата инсулинового рецептора 1 (*IRS-1*) и ингибированием фосфатидилинозитол-3-киназы, отвечающей за образование вторичного посредника сигнализации инсулина, фосфатидилинозитолтрисфосфата [17,18]. В результате этих патологических изменений во внутриклеточных сигнальных молекулах происходит ослабление первичных эффектов сигнализации инсулина (активации транспортеров глюкозы и дефосфорилирования ключевых ферментов углеводного и липидного обмена), усиление инсулинорезистентности периферических тканей и становление гипергликемии, главного диагностического критерия СД2.

В этой связи, исследование вовлеченности генов ферментов редокс-гомеостаза в развитие предрасположенности к СД2 является особенно актуальным как в теоретическом, так и в практическом плане. Цитохром *b-245*, каталитическая субъединица НАДФН-оксидазы, непосредственно вовлечен в регуляцию продукции супероксид-радикала в клетке и состоит из двух субъединиц, одной из которых является легкая цепь цитохрома, кодируемая геном *СУВА* [10]. Имеющиеся в литературе данные об участии *СУВА* в патогенезе СД2

немногочисленны и противоречивы [19,22]. В этой связи целью настоящего исследования стало изучение ассоциаций однонуклеотидных полиморфизмов rs7195830 (G>A), rs8854 (C>T), rs9932581 (C>T) и rs4673 (G>A) гена *CYBA*, кодирующего альфа-цепь цитохрома b-245 НАДФН-оксидазы, с показателями редокс-гомеостаза плазмы крови и риском развития СД2.

Методы

Протокол исследования одобрен Региональным этическим комитетом при Курском государственном медицинском университете (выписка из протокола №10 от 12.12.2016 г.). В исследование было включено 2058 неродственных индивидов славянского происхождения, в том числе 1024 пациента с подтвержденным диагнозом СД2 (359 мужчин и 665 женщин, средний возраст $61,5 \pm 7,3$ года) и 1034 относительно здоровых добровольца (385 мужчин и 649 женщин, средний возраст $61,0 \pm 6,4$ года). Группы больных СД2 и контроля были сопоставимы по полу ($p=0,33$) и возрасту ($p=0,87$). В исследование приглашали больных СД2, получавших стационарное лечение на базе эндокринологического отделения Курской городской клинической больницы скорой медицинской помощи в период с декабря 2016 г. по декабрь 2018 г. Критериями включения в группу больных служили: наличие верифицированного врачом диагноза болезни, подтвержденного клинически и лабораторно-инструментально, возраст старше 35 лет, наличие письменного информированного согласия на участие в исследовании. Критерии исключения больных из основной выборки являлись: выраженная степень декомпенсации СД2 или кома, наличие иммуноопосредованного или идиопатического СД 1 типа, наличие гестационного СД, наличие специфических типов СД, таких как MODY, заболевания экзокринной части поджелудочной железы – панкреатит, травма или панкреатэктомия, опухоли поджелудочной железы, муковисцидоз, гемохроматоз, фиброкалькулезная панкреатопатия, эндокринопатии (акромегалия, синдром Кушинга, глюкагонома, феохромоцитомы, гипертиреоз, соматостатинома, альдостерома), генетические синдромы, сочетающиеся с СД (синдром Дауна, атаксия Фридрейха, хорея Гентингтона, синдром Клайнфельтера, синдром Лоренса-Муна-Бидля, миотоническая дистрофия, порфирия, синдром Прадера-Вилли, синдром Тернера), а также возраст младше 35 лет и отсутствие письменного информированного согласия на участие в проекте.

В группу здоровых индивидов приглашали доноров областной станции переливания крови, а также

использовали материал наших предыдущих исследований [23,24]. Критериями включения лиц в группу контроля служили: возраст старше 35 лет, нормальные значения гликемии согласно критериям ВОЗ [25], отсутствие тяжелых хронических заболеваний, наличие письменного информированного согласия. Критериями исключения из группы контроля являлись: возраст младше 35 лет, гипергликемии в анамнезе, наличие тяжелых хронических заболеваний, отсутствие письменного информированного согласия.

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 колоночным методом с использованием набора QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen) на автоматической станции для экстракции белков и нуклеиновых кислот QiaCube (Qiagen). Качество выделенной ДНК оценивали по степени чистоты и концентрации раствора на спектрофотометре NanoDrop (Thermo Fisher Scientific, США).

Для молекулярно-генетического анализа было отобрано 4 однонуклеотидных полиморфизма гена *CYBA* с выраженным регуляторным потенциалом и частотой минорного аллеля не менее 5%, а именно rs7195830 (G>A), rs8854 (C>T), rs9932581 (C>T) и rs4673 (G>A). Генотипирование полиморфизмов гена *CYBA* проводили с использованием технологии iPLEX на геномном времяпролетном масс-спектрометре MassARRAY Analyzer 4 (Agena Bioscience). Дизайн мультиплекса SNPs и подбор праймеров для ПЦП и iPLEX реакций осуществляли с использованием онлайн программы MassARRAY Assay Design Suite (<https://agenacx.com>). Праймеры были синтезированы компанией Evrogen (Москва).

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 и $t=4^{\circ}\text{C}$, полученную плазму для детекции H_2O_2 аликвотировали и замораживали при -80°C . Образцы, предназначенные для измерения уровня GSH и GSSG, предварительно подвергали депротенинизации раствором трихлоруксусной кислоты, центрифугировали 5 минут при 12000 об./мин., надосадочную жидкость аликвотировали и замораживали при -80°C . Концентрации H_2O_2 и GSH/GSSG определяли флуориметрическим методом с использованием наборов OxiSelect ROS/RNS Assay kit (Cell Biolabs) и GSH/GSSG Assay kit (Abcam), соответственно, на микропланшетном ридере Varioscan Flash (Thermo Fisher Scientific). Концентрации глюкозы и гликированного гемоглобина оценивали с использованием биохимических наборов фирмы Диакон-ДС

на полуавтоматическом биохимическом анализаторе Ral-15.

Размер выборки рассчитывали с использованием онлайн калькулятора Genetic Association Study Power Calculator (http://csg.sph.umich.edu/abecasis/gas_power_calculator/) с учетом частоты минорных аллелей изучаемых полиморфизмов и заболеваемости СД2 в Курской области. Для достижения статистической силы исследования 85% при пороговом уровне значимости ассоциаций $p=0,05$, минимальный размер выборки больных и здоровых должен составлять не менее 1000 человек. Статистическую обработку полученных данных проводили методом логистической регрессии с поправками на возраст и индекс массы тела, с использованием онлайн программы SNPStats (<https://www.snpstats.net/>). Тестировали пять генетических моделей: кодоминантную, доминантную, рецессивную, сверхдоминантную и log-аддитивную. В качестве лучшей выбирали модель с наименьшим численным значением критерия Акаике (AIC, Akaike information). Ассоциация считалась значимой 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. Для проверки нормальности распределения количественных биохимических показателей использовали критерий Колмогорова-Смирнова. Переменные, имеющие нормальное распределение, были описаны с использованием среднего значения (Mean) и стандартного отклонения (St. Dv.) в виде $\text{Mean} \pm \text{St. Dv.}$ В качестве теста статистической значимости использовали тест Стьюдента. Показатели с ненормальным распределением описывали с использованием медианы (Median), первого (Q1) и третьего (Q3) квартилей, в виде: Median [Q1; Q3]. В качестве теста статистической значимости в таких случаях применяли критерий Манна-Уитни. Обнаруженные отличия групп принимались за статистически значимые при $p<0,05$.

Результаты

Все исследованные SNPs находились в соответствии с равновесием Харди-Вайнберга ($p>0,05$). Частоты аллелей изучаемых однонуклеотидных полиморфизмов гена *СУВА* были сопоставимы с европейскими популяциями согласно данным проекта «1000 Genomes», депонированным в Ensembl (<https://www.ensembl.org>). В табл. 1 представлены данные по частотам генотипов гена *СУВА* у здоровых лиц и больных СД2. Генотип А/А rs4673 ассоциировал с повышенным риском развития заболевания (OR 1,49, 95%CI 1,11-1,99, $p=0,0074$, рецессивная модель). Выявленная ассоциация сохранила значимость

и после введения поправки на пол, возраст и индекс массы тела (OR_{adj} 1,51, 95%CI 1,09-2,09, $p_{adj}=0,014$). Частоты генотипов rs7195830, rs8854 и rs9932581 гена *СУВА* пациентов с СД2 не отличались от таковых в группе контроля ($p>0,05$). Тем не менее, нами была отмечена тенденция к увеличению частоты генотипа Т/Т rs8854 среди больных СД2 ($p_{adj}=0,08$). При раздельном сравнении больных СД2 мужчин и женщин с контролем оказалось, что установленная ассоциация rs4673 была характерна только для женщин (OR_{adj} 1,60, 95%CI_{adj} 1,04-2,46, $p_{adj}=0,032$), в то время как частоты генотипов и аллелей гена *СУВА* больных мужчин не отличались от соответствующих показателей здоровых ($p>0,05$).

Анализ гаметического неравновесия по сцеплению показал, что rs4673 сцеплен с rs7195830 ($D'=0,9757$, $p<0,0001$) и с rs8854 ($D'=0,9715$, $p<0,0001$). Результаты анализа частот гаплотипов у больных СД2 и здоровых лиц представлены в табл. 2. Гаплотип G-C-T-A, включающий минорные аллели изучаемых полиморфизмов rs7195830-rs8854-rs9932581-rs4673, ассоциировал с повышенным риском развития СД2 исключительно у мужчин (OR 1,61, 95%CI 1,01-2,57, $p=0,047$), независимо от возраста и индекса массы тела пациентов.

Уровень гликированного гемоглобина и глюкозы крови натощак был повышен у больных СД2 как в общей выборке, так и в подгруппах больных мужчин и женщин ($p<0,001$, табл. 3). Оценка редокс-статуса 608 участников исследования показала, что уровень перекиси водорода в плазме больных СД2 был значительно выше такового в плазме здоровых независимо от пола пациентов ($p<0,05$). Значимых различий по концентрации восстановленного, окисленного и общего глутатиона между больными и здоровыми установлено не было ($p>0,05$). Корреляционный анализ обнаружил, что уровень окисленного глутатиона пациентов прямо пропорционален концентрации их глюкозы крови ($r_s=0,21$, $p<0,05$).

Однако, при анализе взаимосвязей между генетическими и биохимическими данными было обнаружено, что гаплотип G-C-C-A (rs7195830-rs8854-rs9932581-rs4673), несущий минорный аллель rs4673 гена *СУВА*, ассоциирован со снижением содержания восстановленного глутатиона в плазме в среднем на 0,29 мкмоль/л ($p=0,016$) в общей выборке, а также связан с повышением уровня перекиси водорода в среднем на 0,78 мкмоль/л ($p=0,0093$) в подгруппе больных СД2 мужчин. Также у мужчин обнаружена ассоциация генотипа А/А rs4673 с повышением содержания H_2O_2 в плазме в среднем на 0,77 мкмоль/л ($p=0,044$). Интересно, что генотип Т/Т rs9932581 показал взаимосвязь с повышением уровня гликированного гемоглобина в среднем на 2,71% ($p=0,042$) в общей группе пациен-

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

SNP	Аллель/Генотип	Контроль, n (%)	Больные СД2, n (%)	OR (95 CI)	p	OR (95 CI)*	p*
Общая выборка							
rs7195830	G/G	228 (42,2)	248 (41,9)	1,00	0,98	1,00	0,95
	G/A	225 (41,7)	249 (42,1)				
	A/A	87 (16,1)	95 (16,1)	1,00 (0,72-1,37)	1,01 (0,71-1,45)		
	A	36,9	37,1	1,01 (0,85-1,19)	0,95		
rs8854	C/C	902 (87,1)	862 (86,2)	1,00	0,077	1,00	0,08
	T/C	132 (12,7)	131 (13,1)				
	T/T	2 (0,2)	7 (0,7)	3,64 (0,76-17,56)	4,45 (0,76-25,96)		
	T	6,6	7,3	1,11 (0,87-1,42)	0,42		
rs9932581	C/C	345 (33,4)	338 (33,3)	1,00	0,51	1,00	0,36
	T/C	496 (48)	499 (49,2)				
	T/T	193 (18,7)	178 (17,5)	0,93 (0,74-1,16)	0,89 (0,69-1,14)		
	T	42,6	42,1	0,98 (0,86-1,11)	0,73		
rs4673	G/G	440 (43)	430 (43)	1,00	0,0074	1,00	0,014
	G/A	496 (48,5)	449 (44,9)				
	A/A	86 (8,4)	120 (12)	1,49 (1,11-1,99)	1,51 (1,09-2,09)		
	A	32,7	34,5	1,08 (0,95-1,24)	0,24		
Мужчины							
rs7195830	G/G	85 (36,2)	92 (42,4)	1,00	0,42	1,00	0,42
	G/A	103 (43,8)	88 (40,5)				
	A/A	47 (20)	37 (17,1)	0,82 (0,51-1,32)	0,80 (0,47-1,36)		
	A	41,9	37,3	0,83 (0,63-1,08)	0,16		
rs8854	C/C	338 (87,3)	300 (86,7)	1,00	0,26	1,00	0,25
	T/C	48 (12,4)	43 (12,4)				
	T/T	1 (0,3)	3 (0,9)	3,38 (0,35-32,61)	3,49 (0,35-35,38)		
	T	6,5	7,1	1,10 (0,74-1,66)	0,71		
rs9932581	C/C	140 (36,4)	112 (31,6)	1,00	0,39	1,00	0,29
	T/C	167 (43,4)	179 (50,6)				
	T/T	78 (20,3)	63 (17,8)	0,85 (0,59-1,23)	0,80 (0,53-1,21)		
	T	41,9	43,1	1,05 (0,85-1,29)	0,66		
rs4673	G/G	165 (44)	149 (42,6)	1,00	0,097	1,00	0,097
	G/A	178 (47,5)	158 (45,1)				
	A/A	32 (8,5)	43 (12,3)	1,50 (0,93-2,43)	1,57 (0,92-2,69)		
	A	32,3	34,9	1,12 (0,90-1,40)	0,32		
Женщины							
rs7195830	G/G	143 (46,9)	156 (41,6)	1,00	0,38	1,00	0,81
	G/A	122 (40)	161 (42,9)				
	A/A	40 (13,1)	58 (15,5)	1,21 (0,78-1,87)	1,06 (0,64-1,78)		
	A	33,1	36,9	1,18 (0,94-1,48)	0,14		

Продолжение табл. 1 см. на стр. 43

SNP	Аллель/Генотип	Контроль, n (%)	Больные СД2, n (%)	OR (95 CI)	p	OR (95 CI) [*]	p [*]
rs8854	C/C	564 (86,9)	562 (85,9)	1,00	0,17	1,00	0,3
	T/C	84 (12,9)	88 (13,5)				
	T/T	1 (0,2)	4 (0,6)	3,99 (0,44-35,74)		4,00 (0,29-55,67)	
	T	6,6	7,3	1,12 (0,83-1,51)	0,52		
rs9932581	C/C	205 (31,6)	226 (34,2)	1,00	0,88	1,00	0,95
	T/C	329 (50,7)	320 (48,4)				
	T/T	115 (17,7)	115 (17,4)	0,98 (0,74-1,30)		1,01 (0,72-1,41)	
	T	43,1	41,6	0,94 (0,81-1,10)	0,45		
rs4673	G/G	275 (42,5)	281 (43,3)	1,00	0,035	1,00	0,032
	G/A	318 (49,1)	291 (44,8)				
	A/A	54 (8,3)	77 (11,9)	1,48 (1,02-2,13)		1,60 (1,04-2,46)	
	A	32,9	34,3	1,06 (0,90-1,25)	0,46		

Примечания: * – расчеты выполнены с поправкой на пол, возраст и индекс массы тела (рецессивная модель); жирным шрифтом выделены статистически значимые OR (95 CI) и p.

тов с СД2, а также с повышением того же показателя в среднем на 4,44% ($p=0,03$) среди больных СД2 женщин. В подгруппе мужчин отмечена ассоциация генотипа C/T rs9932581 с увеличением доли HbA_{1c} в среднем на 0,61% ($p=0,018$) и с повышением уровня глюкозы крови в среднем на 1,06 ммоль/л ($p=0,029$). Связь уровня глюкозы натощак была установлена и с генотипом A/A rs7195830, у носителей которого концентрация глюкозы была в среднем на 1,17 ммоль/л выше, чем у гомозигот по референсному аллелю G ($p=0,022$).

Обсуждение

Цитохром b-245 служит мембранным компонентом НАДФН-оксидазы и представляет собой гетеродимер, состоящий из легкой (CYBA) и тяжелой (CYBB) цепей и формирующий каталитическое ядро мультибелкового ферментативного комплекса [10]. Главная функция НАДФН-оксидазы заключается в генерации АФК, обеспечивающих реакции врожденного иммунитета в клетках фагоцитарного звена, с одной стороны, и выступающих в качестве сигнальных молекул в клетках, не относящихся к иммунной системе, с другой. АФК модулируют важнейшие редокс-чувствительные ферменты (в том числе митоген-активируемые протеинкиназы ERK1/2 и p38 MAPK, c-Jun-N-терминальную киназу, фосфатидилинозитол-3-киназу PI3K) и транскрипционные факторы (ядерный фактор каппа В NF-κB, белок-активатор AP-1, фактор, индуцируемый гипоксией 1-альфа HIF-1), регулирующие генную экспрессию, апоптоз, рост и дифференциров-

ку клеток [10,26]. Мутации *loss-of-function* в гене *CYBA* (rs104894515 и 22 других SNPs (данные Ensembl, www.ensembl.org) сопровождаются полным отсутствием или дефицитом агрессивных супероксид-анионов, гидроксильных радикалов, перекиси водорода, необходимых для уничтожения интернализированных фагоцитами микроорганизмов, и приводят к развитию хронической гранулематозной болезни – тяжелого первичного иммунодефицита [27]. Однонуклеотидные полиморфизмы, обладающие эффектом *gain-of-function* (в частности, rs4673, rs7195830, rs9932581), напротив, сопровождаются гиперпродукцией супероксид-аниона, в том числе в эндотелии сосудов, повышая таким образом риск развития артериальной гипертензии и ишемической болезни сердца [28,30]. Данные о связи полиморфизмов rs7195830, rs9932581 и rs8854 с предрасположенностью к СД2 в литературе отсутствуют. Выполненное нами исследование также не обнаружило ассоциации трех указанных SNP в нетранслируемых областях гена *CYBA* с риском развития СД2. Тем не менее, нам удалось установить влияние rs9932581 на уровень гликированного гемоглобина: эффект данного полиморфизма был выражен как в отношении повышения процентного содержания HbA_{1c} у женщин, так и в отношении повышения концентрации глюкозы крови натощак у больных СД2 мужчин. Отсутствие связи полиморфного локуса *CYBA* со статусом болезни на фоне имеющейся ассоциации с ведущим фенотипом болезни было описано в 2014 г. Chen P. и соавт. [31], которые провели метаанализ результатов 13 полногеномных ассоциативных исследований, суммарно включавших

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

более 21000 пациентов с СД2, и описали 6 SNP в различных генах (включая rs9933309 гена *CYBA*), ассоциированных с повышенным уровнем HbA_{1c} , но не связанных с уровнем глюкозы крови и риском СД2. Описанные факты подчеркивают большую диагностическую и прогностическую значимость определения процентного содержания гликированного гемоглобина по сравнению с детекцией уровня глюкозы натощак.

Миссенс SNP rs4673 является наиболее известным и хорошо изученным полиморфным локусом гена альфа-цепи цитохрома b-245. Замена одного нуклеотида

G на A во втором экзоне гена *CYBA* приводит к замене аминокислоты гистидина в положении 72 на тирозин, уменьшению упорядоченности вторичной структуры и снижению активности белка [20], что, по всей видимости, компенсируется увеличением интенсивности его синтеза. Так, согласно данным портала GTEx (<https://gtexportal.org/>), депонирующего результаты транскриптомного анализа в различных типах клеток, аллель A rs4673 увеличивает экспрессию гена *CYBA* в поджелудочной железе, печени, подкожной и висцеральной жировой ткани, скелетной мускулатуре, нервах и сосу-

Таблица 2

Частоты гаплотипов гена *CYBA* у больных СД2 и здоровых лиц

	rs7195830	rs8854	rs9932581	rs4673	Контроль	Больные СД2	OR (95% CI)*	p*
Общая выборка								
1	G	C	C	A	0,2012	0,2064	1,00	-
2	A	C	C	G	0,1944	0,1949	1,08 (0,82 - 1,43)	0,59
3	A	C	T	G	0,186	0,1652	0,89 (0,68 - 1,17)	0,4
4	G	C	T	A	0,1269	0,1343	1,15 (0,84 - 1,57)	0,4
5	G	C	C	G	0,119	0,1127	1,04 (0,73 - 1,48)	0,83
6	G	C	T	G	0,1056	0,1093	1,09 (0,77 - 1,53)	0,64
7	G	T	C	G	0,0541	0,0508	0,89 (0,60 - 1,31)	0,55
Общий p ассоциаций гаплотипов: 0,4								
Мужчины								
1	G	C	C	A	0,2249	0,1994	1,00	-
2	A	C	C	G	0,1988	0,2102	1,20 (0,80 - 1,79)	0,38
3	A	C	T	G	0,2282	0,1634	0,85 (0,58 - 1,22)	0,37
4	G	C	T	A	0,1029	0,1485	1,61 (1,01 - 2,57)	0,047
5	G	C	C	G	0,0966	0,1026	1,25 (0,71 - 2,19)	0,44
6	G	C	T	G	0,0839	0,1022	1,29 (0,75 - 2,20)	0,36
7	G	T	C	G	0,0505	0,0514	0,94 (0,50 - 1,75)	0,84
Общий p ассоциаций гаплотипов: 0,16								
Женщины								
1	G	C	C	A	0,1835	0,21	1,00	-
2	A	C	C	G	0,1904	0,1872	0,88 (0,63 - 1,22)	0,44
3	A	C	T	G	0,1522	0,1646	0,90 (0,65 - 1,24)	0,51
4	G	C	T	A	0,145	0,1265	0,77 (0,53 - 1,10)	0,15
5	G	C	C	G	0,1377	0,1175	0,74 (0,50 - 1,09)	0,13
6	G	C	T	G	0,1226	0,1148	0,84 (0,57 - 1,22)	0,35
7	G	T	C	G	0,0582	0,0526	0,86 (0,57 - 1,32)	0,5
Общий p ассоциаций гаплотипов: 0,54								

Примечания: * – расчеты выполнены с поправкой на пол, возраст и индекс массы тела; редкие гаплотипы с частотой < 0,01 не показаны; жирным шрифтом выделены статистически значимые OR (95 CI) и p.

дах, – органах и тканях, имеющих непосредственное патогенетическое отношение к развитию СД2 и вместе образующих так называемый «угрожающий октет» DeFronzo [32]. Кроме того, экспериментальные данные по оценке эффектов однонуклеотидных вариантов ДНК на статус метилирования генов mQTL (<http://www.mqtlldb.org>), аллель A rs4673 связан с гипометилированием *СУВА*, а следовательно, и с увеличением экспрессии этого гена в различные периоды жизни. Связь rs4673 с предрасположенностью к СД2 и его осложнениям была описана в нескольких работах, выполненных на выборках различной этнической принадлежности [19-22, 33, 34]. Нами впервые показана ассоциация rs4673 с повышенным риском развития СД2 в русской популяции, причем исключительно у больных СД2 женщин. Хотя нами не обнаружена ассоциация SNP rs4673 с заболеванием у мужчин, нами впервые установлена у них связь данного локуса с по-

вышением содержания перекиси водорода в плазме крови. Интересно, что и гаплотип G-C-C-A (rs7195830-rs8854-rs9932581-rs4673), включающий рискованный аллель rs4673 гена *СУВА*, ассоциировался как с повышением уровня перекиси водорода в подгруппе больных СД2 мужчин, так и со снижением содержания восстановленного глутатиона в плазме в общей выборке пациентов. По сути аллель A rs4673 детерминирует развитие оксидантного стресса, способствуя формированию отрицательного метаболического фундамента, на котором происходит становление основных фенотипов СД2: хронической гипергликемии и глюкозурии.

Наше исследование выявило смещение баланса в системе редокс-гомеостаза в сторону прооксидантного статуса с увеличением содержания перекиси водорода в плазме больных СД2 мужчин и женщин при отсутствии статистически значимых различий в концентрации общего глутатиона и его подфракций. В экс-

Таблица 3

Показатели гликемического профиля и редокс-гомеостаза у больных СД2 и здоровых лиц

Больные СД2			Контроль		
Показатель	Концентрация	n	Концентрация	n	p
Общая выборка					
HbA _{1c} , Me[Q1;Q3], %	9,10 [7,90;11,00]	1024	4,50 [4,10;4,70]	1034	<0,001
Глюкоза натощак, Me[Q1;Q3], ммоль/л	12,00 [9,49;14,9]	1024	4,90 [4,40;5,00]	1034	<0,001
H ₂ O ₂ , Me[Q1;Q3], мкмоль/л	3,44 [2,49;4,48]	422	2,47 [1,98;3,69]	184	<0,001
GSH, Me[Q1;Q3], мкмоль/л	0,81 [0,48;1,05]	86	0,77 [0,59;0,84]	72	0,89
GSSG, Me[Q1;Q3], мкмоль/л	5,32 [2,37;10,29]	86	10,18 [7,06;10,23]	72	0,08
GSSG/GSH, Me[Q1;Q3], мкмоль/л	5,59 [2,43;11,04]	86	10,90 [7,65;10,99]	72	0,078
Мужчины					
HbA _{1c} , Me[Q1;Q3], %	9,40 [8,00;11,20]	359	4,60 [4,10;4,80]	385	<0,001
Глюкоза натощак, Me[Q1;Q3], ммоль/л	12,52 [9,80;15,20]	359	5,10 [4,50;5,20]	385	<0,001
H ₂ O ₂ , Me[Q1;Q3], мкмоль/л	3,05 [2,29;4,07]	126	2,31 [1,94; 3,48]	90	0,04
GSH, Me[Q1;Q3], мкмоль/л	0,89 [0,64;1,19]	46	0,64 [0,59;0,83]	38	0,12
GSSG, Me[Q1;Q3], мкмоль/л	8,26 [2,29;11,69]	46	8,64 [6,48;10,91]	38	0,83
GSSG/GSH, Me[Q1;Q3], мкмоль/л	9,01 [2,47;12,56]	46	9,26 [7,05;11,64]	38	0,94
Женщины					
HbA _{1c} , Me[Q1;Q3], %	9,00 [7,80;10,80]	665	4,60 [4,20;4,70]	649	<0,001
Глюкоза натощак, Me[Q1;Q3], ммоль/л	11,70 [9,30;14,60]	665	5,00 [4,40;5,10]	649	<0,001
H ₂ O ₂ , Me[Q1;Q3], мкмоль/л	3,56 [2,64;4,69]	296	2,73 [1,93;3,69]	94	0,003
GSH, Me[Q1;Q3], мкмоль/л	0,78 [0,39;1,01]	40	0,84 [0,72;1,37]	34	0,28
GSSG, Me[Q1;Q3], мкмоль/л	4,74 [2,45;9,25]	40	10,18 [10,15;10,21]	34	0,18
GSSG/GSH, Me[Q1;Q3], мкмоль/л	4,77 [2,42;9,54]	40	10,96 [10,93;10,99]	34	0,16

Примечания: HbA_{1c} – гликированный гемоглобин; GSH – восстановленный глутатион; GSSG – окисленный глутатион; GSSG/GSH – общий глутатион; жирным шрифтом выделены статистически значимые p.

периментальной работе на мышах [35] и клеточных линиях миоцитов [36] также было показано, что дисбаланс в про- и антиоксидантной системах скорее является результатом избыточной продукции АФК на фоне гиперактивности НАДФН-оксидазы, нежели следствием недостатка антиоксидантов. Прооксидантный статус способствует повреждению внутриклеточных сигнальных молекул, участвующих в реализации первичных эффектов инсулина в периферических тканях, а также регулирующих синтез и секрецию инсулина в бета-клетках поджелудочной железы [37–39], что в свою очередь приводит к прогрессированию инсулинорезистентности и уменьшению функционирующей массы бета-клеток.

Таким образом, в проведенном исследовании впервые в русской популяции установлена ассоциация полиморфизма rs4673 гена альфа-цепи цитохрома b-245 с повышенным риском развития СД2. Механизм взаимосвязи данного SNP с заболеванием объясняется более выраженным синтезом СУВА НАДФН-оксидазы у носителей минорного аллеля А rs4673, что проявляется увеличением концентрации перекиси водорода в плазме крови. Нами также показано влияние rs9933309 и rs7195830 на показатели гомеостаза глюкозы. Кроме того, следует отметить, что установленные ассоциации свидетельствуют о наличии полового диморфизма во взаимосвязях полиморфизмов гена СУВА с биохимическими показателями и статусом болезни. Полученные данные открывают перспективы для дальнейшего изучения генетико-биохимических особенностей метаболизма глюкозы и редокс-гомеостаза при СД2 и выяснения роли функциональных субъединиц НАДФН-оксидазы в развитии этого заболевания.

Список литературы

- World Health Organization. Global status report on noncommunicable diseases 2014 (No. WHO/NMH/NVI/15.1). World Health Organization.
- Cho N., Shaw J.E., Karuranga S., Huang Y., da Rocha Fernandes J. D., Ohlrogge A.W. et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes research and clinical practice* 2018; 138: 271–281. doi:10.1016/j.diabres.2018.02.023.
- Шестакова М.В., Сухарева О.Ю. Диагностика и выбор метода лечения сахарного диабета 2 типа. *Клиническая фармакология и терапия* 2018; 27(2): 1–7.
- Flannick J., Florez J.C. Type 2 diabetes: genetic data sharing to advance complex disease research. *Nature Reviews Genetics* 2016; 17(9): 535. doi:10.1038/nrg.2016.56.
- 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. doi:10.1038/nature18642.
- Бутаева С.Г., Аметов А.С., Бугров А.В., Долгов В.В. Варибельность уровня глюкозы в крови и окислительный стресс у больных сахарным диабетом 2-го типа на фоне комбинированной сахароснижающей терапии. *Терапевтический архив (архив до 2018 г.)* 2017; 89(10): 36–39. doi:10.17116/terarkh2017891036-39.
- Tangvarasittichai S. Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. *World journal of diabetes* 2015; 6(3): 456. doi:10.4239/wjd.v6.i3.456.
- Banerjee M., Vats P. Reactive metabolites and antioxidant gene polymorphisms in type 2 diabetes mellitus. *Redox biology* 2014; 2: 170–177. doi: 10.1016/j.redox.2013.12.001.
- 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.
- Magnani F., Nenci S., Fananas E.M., Ceccon M., Romero E., Fraaije M.W. et al. Crystal structures and atomic model of NADPH oxidase. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2017; 114(26): 6764–6769. doi: 10.1073/pnas.1702293114.
- Rovira-Llopis S., Rocha M., Falcon R., de Pablo C., Alvarez A., Jover A. et al. Is myeloperoxidase a key component in the ROS-induced vascular damage related to nephropathy in type 2 diabetes?. *Antioxidants and Redox Signaling* 2013; 19(13): 1452–1458. doi: 10.1089/ars.2013.5307.
- Orno T.G., Arif M., Idris I. Correlation between onset of diabetes mellitus and nitric oxide levels in patient with type 2 diabetes mellitus. *Medical Laboratory Technology Journal* 2018; 4(1): 8–11.
- Аметов А.С., Соловьева О.Л. Окислительный стресс при сахарном диабете 2-го типа и пути его коррекции. *Проблемы эндокринологии* 2011; 57(6): 52–56.
- Evans J.L., Goldfine I.D., Maddux B.A., Grodsky G.M. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocrine reviews* 2002; 23(5): 599–622. doi: 10.1210/er.2001-0039.
- Duan D.D., Kwan C.Y. A molecular switch of «Yin and Yang»: S-glutathionylation of eNOS turns off NO synthesis and turns on superoxide generation. *Acta Pharmacologica Sinica* 2011; 32(4): 415. doi: 10.1038/aps.2011.21.
- Wright E., Scism-Bacon J.L., Glass L.C. Oxidative stress in type 2 diabetes: the role of fasting and postprandial glycaemia. *Int J Clin Pract* 2006; 60(3): 308–314. doi: 10.1111/j.1368-5031.2006.00825.x.
- Chang Y.C., Chuang L.M. The role of oxidative stress in the pathogenesis of type 2 diabetes: from molecular mechanism to clinical implication. *Am J Transl Res* 2010; 2(3): 316–331.
- Folli F., Corradi D., Fantì P., Davalli A., Paez A., Giaccari A et al. The role of oxidative stress in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus micro and macrovascular complications: avenues for a mechanistic-based therapeutic approach. *Current Diabetes Reviews* 2011; 7(5): 313–324. doi: 10.2174/157339911797415585.
- Santos K.G., Canani L.H., Gross J.L., Tschiedel B., Souto K.E., Roisenberg I. et al. Relationship of p22phox C242T polymorphism with nephropathy in type 2 diabetic patients. *J. Nephrol* 2005; 18: 733–738.
- Petrović D. Association of the –262C/T polymorphism in the catalase gene promoter and the C242T polymorphism of the NADPH oxidase P22phox gene with essential arterial hypertension in patients with diabetes mellitus type 2. *Clinical and experimental hypertension* 2014; 36(1): 36–39. doi: 10.3109/10641963.2013.783051.
- Schreiber R., Ferreira-Sae M.C., Tucunduva A.C., Mill J.G., Costa F.O., Krieger J.E. et al. CYBA C242T polymorphism is associated with obesity and diabetes mellitus in Brazilian hypertensive patients. *Diabetic Medicine* 2012; 29(7): e55–e61. doi: 10.1111/j.1464-5491.2012.03594.x.
- Tang R.N., Wu P., An L. NADPH oxidase p22phox C242T polymorphism is associated with macroalbuminuria in diabetic patients: a meta-analysis. *Journal of Diabetes and its Complications* 2017; 31(7): 1207–1211. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2017.02.015.

23. Азарова Ю.Э., Клесова Е.Ю., Конопля А.И. Роль полиморфизмов генов глутаматцистеинлигазы в развитии сахарного диабета 2 типа у жителей Курской области. Научный результат. Серия «Медицина и фармация» 2018; 4(1): 39-53. doi: 10.18413/2313-8955-2018-4-1-39-52.
24. 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. *J. Diabetes* 2018; 10(5): 398-407. doi: 10.1111/1753-0407.12623.
25. World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO consultation. Part 1, Diagnosis and classification of diabetes mellitus (No. WHO/NCD/NCS/99.2). 1999; Geneva: World health organization.
26. Henriksen E.J., Diamond-Stanic M.K., Marchionne E.M. Oxidative stress and the etiology of insulin resistance and type 2 diabetes. *Free Radical Biology and Medicine* 2011; 51(5): 993-999. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.005.
27. Rae J., Noack D., Heyworth P.G., Ellis B.A., Curnutte J.T., Cross A.R. Molecular analysis of 9 new families with chronic granulomatous disease caused by mutations in CYBA, the gene encoding p22 phox. *Blood* 2000; 96(3):1106-1112.
28. Niemiec P., Nowak T., Iwanicki T., Krauze J., Górczyska-Kosiorz S., Grzeszczak W. et al. The -930A>G polymorphism of the CYBA gene is associated with premature coronary artery disease. A case-control study and gene–risk factors interactions. *Molecular biology reports* 2014; 41(5): 3287-3294. doi: 10.1007/s11033-014-3191-9.
29. Nowak T., Niemiec P., Górczyska-Kosiorz S., Balcerzyk A., Iwanicki T., Krauze J. et al. The CYBA gene 49A> G polymorphism (rs7195830) is associated with hypertension in patients with coronary artery disease. *BioMed research international* 2016: 1-7. doi: 10.1155/2016/1539671.
30. Mazaheri M., Karimian M., Behjati M., Raygan F., Colagar A. Association analysis of rs1049255 and rs4673 transitions in p22phox gene with coronary artery disease: A case-control study and a computational analysis. *Irish Journal of Medical Science* 2017.186(4): 921-928. doi: 10.1007/s11845-017-1601-4.
31. Chen P., Takeuchi F., Lee J.Y., Li H., Wu J.Y., Liang J. et al. Multiple nonglycemic genomic loci are newly associated with blood level of glycated hemoglobin in East Asians. *Diabetes* 2014; 63(7): 2551-2562. doi: 10.2337/db13-1815.
32. De Fronzo R.A. From triumvirate to the ominous octet: a new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes* 2009; 58(4): 773–95.
33. Sun Q., Yin Y., Zhu Z., Yan Z. Association of the C242T polymorphism in the NAD(P)H oxidase P22 phox gene with type 2 diabetes mellitus risk: a meta-analysis. *Curr Med Res Opin* 2014; 30:415–22. doi: 10.1185/03007995.2013.858620.
34. Li T., Xi H.F., Luo H.M., Liu W.X., Gao X., Liu D.W. et al. Association of the NAD(P)H oxidase p22 phox gene C242T polymorphism with type 2 diabetes mellitus, diabetic nephropathy, and carotid atherosclerosis with type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis. *Meta Gene* 2015; 6: 1–8. doi: 10.1016/j.mgene.2015.07.009.
35. Pigna E., Greco E., Morozzi G., Grottelli S., Rotini A., Minelli A. et al. Denervation does not induce muscle atrophy through oxidative stress. *European journal of translational myology* 2017; 27(1): 6406. doi: 10.4081/ejtm.2017.6406.
36. Wei Y., Sowers J.R., Nistala R., Gong H., Uptergrove G.M.E., Clark S.E. et al. Angiotensin II-induced NADPH oxidase activation impairs insulin signaling in skeletal muscle cells. *Journal of Biological Chemistry* 2006; 281(46): 35137-35146. doi: 10.1074/jbc.M601320200.
37. Drummond G.R., Selemidis S., Griendling K.K., Sobey C.G. Combating oxidative stress in vascular disease: NADPH oxidases as therapeutic targets. *Nature reviews Drug discovery* 2011; 10(6): 453.
38. Jones D.P. Radical-free biology of oxidative stress. *Am. J. Physiol Cell Physiol* 2008; 295(4): C849–C868. doi: 10.1152/ajpcell.00283.2008.
39. Santos C.X., Tanaka L.Y., Wosniak J., Laurindo F.R. Mechanisms and implications of reactive oxygen species generation during the unfolded protein response: roles of endoplasmic reticulum oxidoreductases, mitochondrial electron transport, and NADPH oxidase. *Antioxid. Redox Signal* 2009; 11(10): 2409–2427. doi: 10.1089/ars.2009.2625.

References

- World Health Organization. Global status report on noncommunicable diseases 2014 (No. WHO/NMH/NVI/15.1). World Health Organization.
- Cho N., Shaw J.E., Karuranga S., Huang Y., da Rocha Fernandes J. D., Ohlrogge A.W. et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes research and clinical practice* 2018; 138: 271-281. doi:10.1016/j.diabres.2018.02.023.
- Shestakova M.V., Sukhareva O.Yu. Diagnostika i vybor metoda lecheniya sakharnogo diabeta 2 tipa. [Diagnosis and the choice of treatment of type 2 diabetes mellitus]. *Klinicheskaya farmakologiya i terapiya [Clinical pharmacology and therapy]* 2018; 27(2): 1-7. (In Russ.)
- Flannick J., Florez J.C. Type 2 diabetes: genetic data sharing to advance complex disease research. *Nature Reviews Genetics* 2016; 17(9): 535. doi:10.1038/nrg.2016.56.
- 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. doi:10.1038/nature18642.
- Butaeva S.G., Ametov A.S., Bugrov A.V., Dolgov V.V. Variabel'nost' urovnya glyukozy v krovi i oksislitel'nyy stress u bol'nykh sakharnym diabetom 2-go tipa na fone kombinirovannoy sakharnosnizhayushchey terapii. [Glycemic variability and oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus during combined glucose-lowering therapy]. *Terapevticheskiy arkhiv (arkhiv do 2018 g.) [Therapeutic Archive (Archive before 2018)]* 2017; 89(10): 36-39. (In Russ.) doi:10.17116/terarkh2017891036-39.
- Tangvarasittichai S. Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. *World journal of diabetes* 2015; 6(3): 456. doi: 10.4239/wjd.v6.i3.456.
- Banerjee M., Vats P. Reactive metabolites and antioxidant gene polymorphisms in type 2 diabetes mellitus. *Redox biology* 2014; 2: 170-177. doi: 10.1016/j.redox.2013.12.001.
- Azarova I.E., Konoplya A.I., Polonikov A.V. Polimorfizm genov glutation S-transferaz i predispozitsionnost' k sakharnomu diabetu 2 tipa u zhitel'ey Tsentral'nogo Chernozem'ya. [Genetic variation in genes for glutathione S-Transferases and susceptibility to type 2 diabetes mellitus in Central Chernozem region of Russia]. *Meditsinskaya genetika [Medical genetics]* 2017; 16(4): 29-34 (In Russ.)
- Magnani F., Nenci S., Fananas E.M., Cecon M., Romero E., Fraaije M.W. et al. Crystal structures and atomic model of NADPH oxidase. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2017; 114(26): 6764-6769. doi: 10.1073/pnas.1702293114.
- Rovira-Llopis S., Rocha M., Falcon R., de Pablo C., Alvarez A., Jover A. et al. Is myeloperoxidase a key component in the ROS-induced vascular damage related to nephropathy in type 2 diabetes?. *Antioxidants and Redox Signaling* 2013; 19(13): 1452-1458. doi: 10.1089/ars.2013.5307.
- Orno T.G., Arif M., Idris I. Correlation between onset of diabetes mellitus and nitric oxide levels in patient with type 2 diabetes mellitus. *Medical Laboratory Technology Journal* 2018; 4(1): 8-11.
- Ametov A.S., Solovieva O.L. Oksislitel'nyy stress pri sakharnom diabeto 2-go tipa i puti ego korrektsii. [Oxidative stress in type 2 diabetes mellitus and methods for its correction]. *Problemy endokrinologii [Problems of endocrinology]* 2011; 57(6): 52-56.

14. Evans J.L., Goldfine I.D., Maddux B.A., Grodsky G.M. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocrine reviews* 2002; 23(5): 599-622. doi: 10.1210/er.2001-0039.
15. Duan D.D., Kwan C.Y. A molecular switch of “Yin and Yang”: S-glutathionylation of eNOS turns off NO synthesis and turns on superoxide generation. *Acta Pharmacologica Sinica* 2011; 32(4): 415. doi: 10.1038/aps.2011.21.
16. Wright E., Scism-Bacon J.L., Glass L.C. Oxidative stress in type 2 diabetes: the role of fasting and postprandial glycaemia. *Int J Clin Pract* 2006; 60(3): 308-314. doi: 10.1111/j.1368-5031.2006.00825.x.
17. Chang Y.C., Chuang L.M. The role of oxidative stress in the pathogenesis of type 2 diabetes: from molecular mechanism to Clinical implication. *Am J Transl Res* 2010; 2(3): 316-331.
18. Folli F., Corradi D., Fanti P., Davalli A., Paez A., Giaccari A et al. The role of oxidative stress in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus micro and macrovascular complications: avenues for a mechanistic-based therapeutic approach. *Current Diabetes Reviews* 2011; 7(5): 313-324. doi: 10.2174/157339911797415585.
19. Santos K.G., Canani L.H., Gross J.L., Tschiedel B., Souto K.E., Roisenberg I. et al. Relationship of p22phox C242T polymorphism with nephropathy in type 2 diabetic patients. *J. Nephrol* 2005; 18: 733-738.
20. Petrović D. Association of the -262C/T polymorphism in the catalase gene promoter and the C242T polymorphism of the NADPH oxidase P22phox gene with essential arterial hypertension in patients with diabetes mellitus type 2. *Clinical and experimental hypertension* 2014; 36(1): 36-39. doi: 10.3109/10641963.2013.783051.
21. Schreiber R., Ferreira-Sae M.C., Tucunduva A.C., Mill J.G., Costa F.O., Krieger J.E. et al. CYBA C242T polymorphism is associated with obesity and diabetes mellitus in Brazilian hypertensive patients. *Diabetic Medicine* 2012; 29(7): e55-e61. doi: 10.1111/j.1464-5491.2012.03594.x.
22. Tang R.N., Wu P., An L. NADPH oxidase p22phox C242T polymorphism is associated with macroalbuminuria in diabetic patients: a meta-analysis. *Journal of Diabetes and its Complications* 2017; 31(7): 1207-1211. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2017.02.015.
23. Azarova Yu.E., Klyosova E.Yu., Konoplya A.I. Rol' polimorfizmova genov glutamatsisteinligazy v razvitii sakharnogo diabeta 2 tipa u zhiteley Kurskoy oblasti. [The role of polymorphisms of glutamate-cysteine ligase in type 2 diabetes mellitus susceptibility in Kursk population] *Nauchnyy rezul'tat. Seriya «Meditsina i farmatsiya»* [Research result. «Medicine and Pharmacy» series] 2018; 4(1): 39-53. doi: 10.18413/2313-8955-2018-4-1-39-52.
24. 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. *J. Diabetes* 2018; 10(5): 398-407. doi: 10.1111/1753-0407.12623.
25. World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO consultation. Part 1, Diagnosis and classification of diabetes mellitus (No. WHO/NCD/NCS/99.2). 1999; Geneva: World health organization.
26. Henriksen E.J., Diamond-Stanic M.K., Marchionne E.M. Oxidative stress and the etiology of insulin resistance and type 2 diabetes. *Free Radical Biology and Medicine* 2011; 51(5): 993-999. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.005.
27. Rae J., Noack D., Heyworth P.G., Ellis B.A., Curnutte J.T., Cross A.R. Molecular analysis of 9 new families with chronic granulomatous disease caused by mutations in CYBA, the gene encoding p22 phox. *Blood* 2000; 96(3):1106-1112.
28. Niemiec P., Nowak T., Iwanicki T., Krauze J., Górczyska-Kosiorz S., Grzeszczak W. et al. The -930A>G polymorphism of the CYBA gene is associated with premature coronary artery disease. A case-control study and gene-risk factors interactions. *Molecular biology reports* 2014; 41(5): 3287-3294. doi: 10.1007/s11033-014-3191-9.
29. Nowak T., Niemiec P., Górczyńska-Kosiorz S., Balcerzyk A., Iwanicki T., Krauze J. et al. The CYBA gene 49A> G polymorphism (rs7195830) is associated with hypertension in patients with coronary artery disease. *BioMed research international* 2016: 1-7. doi: 10.1155/2016/1539671.
30. Mazaheri M., Karimian M., Behjati M., Raygan F., Colagar A. Association analysis of rs1049255 and rs4673 transitions in p22phox gene with coronary artery disease: A case-control study and a computational analysis. *Irish Journal of Medical Science* 2017.186(4): 921-928. doi: 10.1007/s11845-017-1601-4.
31. Chen P., Takeuchi F., Lee J.Y., Li H., Wu J.Y., Liang J. et al. Multiple nonglycemic genomic loci are newly associated with blood level of glycated hemoglobin in East Asians. *Diabetes* 2014; 63(7): 2551-2562. doi: 10.2337/db13-1815.
32. De Fronzo R.A. From triumvirate to the ominous octet: a new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes* 2009; 58(4): 773-95.
33. Sun Q., Yin Y., Zhu Z., Yan Z. Association of the C242T polymorphism in the NAD(P)H oxidase P22 phox gene with type 2 diabetes mellitus risk: a meta-analysis. *Curr Med Res Opin* 2014; 30:415-22. doi: 10.1185/03007995.2013.858620.
34. Li T., Xi H.F., Luo H.M., Liu W.X., Gao X., Liu D.W. et al. Association of the NAD(P)H oxidase p22 phox gene C242T polymorphism with type 2 diabetes mellitus, diabetic nephropathy, and carotid atherosclerosis with type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis. *Meta Gene* 2015; 6: 1-8. doi: 10.1016/j.mgene.2015.07.009.
35. Pigna E., Greco E., Morozzi G., Grottelli S., Rotini A., Minelli A. et al. Denervation does not induce muscle atrophy through oxidative stress. *European journal of translational myology* 2017; 27(1): 6406. doi: 10.4081/ejtm.2017.6406.
36. Wei Y., Sowers J.R., Nistala R., Gong H., Uptergrove G.M.E., Clark S.E. et al. Angiotensin II-induced NADPH oxidase activation impairs insulin signaling in skeletal muscle cells. *Journal of Biological Chemistry* 2006; 281(46): 35137-35146. doi: 10.1074/jbc.M601320200.
37. Drummond G.R., Selemidis S., Griendling K.K., Sobey C.G. Combating oxidative stress in vascular disease: NADPH oxidases as therapeutic targets. *Nature reviews Drug discovery* 2011; 10(6): 453.
38. Jones D.P. Radical-free biology of oxidative stress. *Am. J. Physiol Cell Physiol* 2008; 295(4): C849-C868. doi: 10.1152/ajpcell.00283.2008.
39. Santos C.X., Tanaka L.Y., Wosniak J., Laurindo F.R. Mechanisms and implications of reactive oxygen species generation during the unfolded protein response: roles of endoplasmic reticulum oxidoreductases, mitochondrial electron transport, and NADPH oxidase. *Anti-oxid. Redox Signal* 2009; 11(10): 2409-2427. doi: 10.1089/ars.2009.2625.