Полиморфные варианты гена *NOX1* и риск развития сахарного диабета второго типа

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

*Курский государственный медицинский университет
Россия, 305041 г. Курск, улица Карла Маркса, 3.*

**Email: ecless@yandex.ru*

Установлена ассоциация локуса *rs5921678* гена *NOX1* с риском развития сахарного диабета 2 типа у женщин в русской популяции.

Ключевые слова: *NOX1*, однонуклеотидный полиморфизм, NADPH-оксидаза, индекс массы тела, глюкоза крови, сахарный диабет 2 типа.

NOX1 – член семейства ферментов NADPH-оксидазы, главной функцией которых является генерация супероксид-аниона. NADPH-оксидаза 1 (рисунок 1) представляет собой пиридиннуклеотид-зависимую оксидоредуктазу, участвующую в регуляции клеточного pH [1].

Рис. 1. Трехмерная структура фермента NADPH-оксидазы 1.

Активность NADPH-оксидазы 1 в значительной степени определяет баланс в редокс-системе. Именно нарушения в этой системе являются причиной развития окислительного стресса и составляют основу патогенеза сахарного диабета 2 типа (СД2), одного из самых распространенных метаболических заболеваний в мире [2].

Целью настоящей работы стало изучение ассоциаций полиморфных однонуклеотидных вариантов *rs5921678*, *rs5921668*, *rs5921682* гена *NOX1* с биохимическими показателями плазмы крови, а также с риском у больных СД2 женщин и здоровых лиц.

В исследование принимали участие 2012 женщин, из них 988 человек (средний возраст $62,2 \pm 6,7$ лет) составили группу больных СД2, получавших стационарное лечение на базе эндокринологического отделения Курской городской клинической больницы скорой медицинской помощи с декабря 2016 по октябрь 2019 гг, и 1024 вошли в группу контроля - доноры областной станции переливания крови. У всех участников исследования проводили однократный забор 10 мл крови натощак в вакуумные пробирки с ЭДТА (для генетического тестирования) и гепарином лития (для биохимического анализа). Геномную ДНК выделяли колоночным методом с помощью набора QIAamp DNA blood kit (QIAGEN) на автоматической станции QiaCube (QIAGEN, Германия). Генотипирование полиморфизмов гена *NOX1* проводили с использованием технологии iPLEX на геномном времяпролетном масс-спектрометре MassArray Analyzer 4 (Agena Bioscience, США). Концентрации перекиси водорода и глутатиона в плазме крови определяли с помощью наборов OxiSelect ROS/RNS Assay kit (Cell Biolabs), GSH/GSSG Assay kit (Abcam) флуориметрическим методом на микропланшетном ридере Varioscan Flash (Thermo Fisher Scientific, США). Концентрации глюкозы, гликированного гемоглобина, С-пептида, общего холестерина, липопротеинов высокой и низкой плотности (ЛВП, ЛНП) и триацилглицеролов (ТАГ) определяли на полуавтоматическом биохимическом анализаторе Clima MC-15 (RAL, Испания) стандартными наборами реагентов фирмы «Диакон-ДС» (Россия). Ассоциации генотипов с риском СД2 изучали методом логистической регрессии с поправкой на пол, возраст и ИМТ с помощью программы SNPStats [3].

С помощью онлайн-программы GTE Portal [4], мы провели анализ тканеспецифичных эффектов минорных аллелей изучаемых SNPs и обнаружили, что носители генотипа T/T rs5921678, T/T rs5921668 и G/G rs5921682 имеют более низкую экспрессию *NOX1* в широком спектре тканей.

Генотип T/T rs5921678 ассоциировался с пониженным риском СД2 у женщин (OR 0,73, 95% CI 0.57-0.93, $P=0.012$, рецессивная модель). Ассоциация осталась значимой и после введения поправок на возраст и ИМТ (OR 0,75, 95% CI 0.58-0.97, $P_{adj}=0.028$). Частоты аллелей и генотипов rs5921668 и rs5921682 между группами больных СД2 и контроля статистически значимо не отличались ($p>0.05$).

Анализ неравновесия по сцеплению показал, что rs5921678 сцеплен с rs5921668 ($D'=0,9212$, $P<0,0001$, Таблица 1).

Таблица 1. Неравновесие по сцеплению между полиморфными вариантами гена *NOX1*.

SNP ID	rs5921668	rs5921678	rs5921682
rs5921668		0.1841	-0.0673
		0.9212	0.4327
rs5921678			-0.0856
			0.4705
Показатели неравновесия по сцеплению между SNPs: верхние ячейки – D (заливка серым), нижние – D'. Представлены только статистически значимые показатели неравновесия по сцеплению ($P<1.0 \cdot 10^{-9}$).			

Анализ частот гаплотипов установил, что гаплотип rs5921668-A- rs5921678-T- rs5921682-A оказывает протективный эффект на риск развития заболевания (OR 0,68, 95% CI 0.50-0.91, $p_{adj}=0.011$, Таблица 2).

Таблица 2. Распределение и анализ ассоциаций гаплотипов *NOX1* с риском развития СД2.

SNPs <i>H</i>	rs5921668	rs5921678	rs5921682	Контроль	Больные СД2	OR (95%CI) ¹	<i>P</i>
<i>H1</i>	A	C	G	0.3735	0.3943	1.00	---
<i>H2</i>	A	C	A	0.2207	0.2351	1.00 (0.84 - 1.18)	0.96
<i>H3</i>	G	T	A	0.233	0.2135	0.87 (0.74 - 1.03)	0.1
<i>H4</i>	G	T	G	0.0761	0.0828	1.02 (0.78 - 1.34)	0.87
<i>H5</i>	A	T	A	0.0626	0.0425	0.68 (0.50 - 0.91)	0.011
<i>H6</i>	A	T	G	0.0135	0.0209	1.37 (0.79 - 2.36)	0.26
<i>редкие</i>	*	*	*	0.0091	0.007	0.53 (0.31 - 0.89)	0.017
Общий <i>P</i> ассоциаций: 0.015							

Анализ связи изучаемых SNPs с биохимическими показателями выявил, что уровень гликированного гемоглобина у носителей генотипа T/T rs5921678 на 3,96 ммоль/л выше, чем у носителей референсного аллеля C (*P*=0,01).

Таким образом, в проведенном исследовании впервые в русской популяции установлена ассоциация rs5921678 гена *NOX1* с пониженным риском развития СД2. Протективный эффект данного варианта в отношении заболевания объясняется менее выраженным синтезом супероксид-продуцирующего фермента НАДФН-оксидазы у носителей минорного аллеля Т, что проявляется снижением окислительного стресса.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 20-15-00227).

Литература

1. Wendt, Maria C., et al. "Differential effects of diabetes on the expression of the gp91phox homologues nox1 and nox4." *Free Radical Biology and Medicine* 39.3 (2005): 381-391. Edghill E.L., Bingham C., Ellard S., Hattersley A.T. Mutations in hepatocyte nuclear factor-1beta and their related phenotypes. *J Med Genet* 2006; 43: 84-90. doi.org/10.1136/jmg.2005.032854.
2. World Health Organization et al. Global status report on noncommunicable diseases 2014. – World Health Organization, 2014. – №. WHO/NMH/NVI/15.1.
3. Solé X., Guinó E., Valls J., Iniesta R., Moreno V. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics* 2006; 22(15): 1928-1929. doi.org/10.1093/bioinformatics/btl268.
4. GTEx Consortium. "The Genotype-Tissue Expression (GTEx) pilot analysis: Multi-tissue gene regulation in humans." *Science* 348.6235 (2015): 648-660.

Polymorphic variants at *NOX1* gene and the risk of type 2 diabetes mellitus

E. Klyosova*, I. Azarova, A. Polonikov

*Kursk State Medical University
3 Karl Marx Street, 305041 Kursk, Russia.*

**Email: ecless@yandex.ru*

An association of the rs5921678 at the *NOX1* gene with a risk of developing type 2 diabetes in the Russian population in females has been established.

Keywords: *NOX1*, single nucleotide polymorphism, NADPH oxidase, body mass index, blood glucose, type 2 diabetes mellitus