

УДК 575.174.015.3:616.379-008.64(470.323)

DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-1-39-52

Азарова Ю.Э.,
Клесова Е.Ю.,
Конопля А.И.

**РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ГЛУТАМАТЦИ-
СТЕИНЛИГАЗЫ В РАЗВИТИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА
2 ТИПА У ЖИТЕЛЕЙ КУРСКОЙ ОБЛАСТИ**

ФГБОУ ВО Курский государственный медицинский университет Минздрава России,
кафедра фармацевтической технологии,
улица Карла Маркса, 3, г. Курск, 305041, Россия
E-mail: azzzzar@yandex.ru

Аннотация. *Актуальность.* Глутаматцистеинлигаза (GCL) является первым ферментом синтеза глутатиона, внутри- и внеклеточного антиоксиданта, нарушение обмена которого играет важную роль в патогенезе сахарного диабета 2 типа (СД2). *Проблема.* Изучены связи полиморфизмов генов *GCLC* (-129 C>T, rs17883901) и *GCLM* (-588 C>T, rs41303970) с риском развития СД2 и про/антиоксидантным статусом жителей Курской области. *Материалы и методы.* В исследование были включены 700 больных СД2 (269 мужчин и 431 женщина) со средним возрастом 59,24 ± 8,77 лет, находившихся на стационарном лечении в эндокринологическом отделении Курской Городской клинической больницы скорой медицинской помощи с ноября 2015 г по май 2017 г. Группу контроля составили 718 практически здоровых добровольцев (311 мужчин и 407 женщин) со средним возрастом 58,61 ± 7,65 лет. Генотипирование полиморфизмов генов *GCLC* (-129 C>T, rs17883901) и *GCLM* (-588 C>T, rs41303970) было выполнено методом ПЦР в режиме реального времени с дискриминацией аллелей с помощью TaqMan зондов. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью онлайн программы SNPStats. *Результаты.* Частоты генотипов *GCLC* и *GCLM* между группами пациентов с СД2 и контроля не отличались ($p > 0,05$). При отдельном сравнении больных СД2 мужчин и женщин со здоровыми лицами оказалось, что генотип Т/Т гена *GCLC* ассоциирован с повышенным риском развития заболевания исключительно в подгруппе мужчин (OR 1,65, 95% CI 1,05-2,61, $p = 0,03$) и особенно среди курящих пациентов (OR 2,36, 95% CI 1,19-4,65, $p = 0,01$); у них же обнаружено и более частое по сравнению со здоровыми носительство аллеля Т гена *GCLC* (OR 1,69, 95% CI 1,11-2,58, $p = 0,02$), а также более высокое содержание окисленного глутатиона GSSG и перекиси водорода в плазме крови ($p < 0,05$). *Выводы.* Курение и носительство редкого аллеля Т гена *GCLC* (rs17883901) увеличивают риск развития СД2 у мужчин, что может способствовать формированию дисбаланса в про- и антиоксидантной системе.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа; однонуклеотидный полиморфизм; *GCLC*; *GCLM*; генетическая предрасположенность.

Yu.E. Azarova,
E.Yu. Klyosova,
A.I. Konoplya

**THE ROLE OF POLYMORPHISMS OF
GLUTAMATE-CYSTEINE LIGASE IN TYPE 2 DIABETES
MELLITUS SUSCEPTIBILITY IN KURSK POPULATION**

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education
“Kursk State Medical University” of the Ministry of Health of the Russian Federation,
3 Karl Marks St., Kursk, 305041
E-mail: azzzzar@yandex.ru

Abstract. Relevance. Glutamate-cysteine ligase (GCL) is the first enzyme of the glutathione cycle, intra- and extracellular antioxidant, whose impaired metabolism plays an important role in type 2 diabetes (T2D) pathogenesis. **Problem.** The authors study associations of the *GCLC* (-129 C>T, rs17883901) and *GCLM* (-588 C>T, rs41303970) polymorphisms with the risk of T2D development and pro/antioxidant status in the population of Kursk region. **Materials and methods.** The study groups included 700 T2D patients (269 males and 431 females) of mean age 59,24±8,77 who were admitted to the endocrinological department of Kursk Emergency Hospital from November 2015 to May 2017, and 718 healthy subjects (311 males and 407 females) of mean age 58,61±7,65. Genotyping of *GCLC* (-129 C>T, rs17883901) and *GCLM* (-588 C>T, rs41303970) polymorphisms was performed by PDAF, PCR, real-time discrimination of alleles using TaqMan probes. Statistical analysis was performed with the use of the on-line software SNPStats. **Results.** There was no difference in genotype distribution among type 2 DM and control subjects in *GCLC* and *GCLM* genes ($p>0,05$). Sex-stratified analysis revealed association of T/T genotype of *GCLC* gene with an increased risk of T2D development exclusively in males (OR 1,65, 95%CI 1,05-2,61, $p=0,03$) and particularly in a subgroup of smokers (OR 2,36, 95%CI 1,19-4,65, $p=0,01$); they also showed an increased frequency of rare allele T of *GCLC* gene (OR 1,69, 95%CI 1,11-2,58, $p=0,02$), and elevated plasma levels of oxidized glutathione GSSG and hydrogen peroxide. **Conclusions.** Smoking and rare allele T of the *GCLC* gene (rs17883901) increase susceptibility to T2D in males and contribute to formation of imbalance in pro- and antioxidant systems.

Keywords: type 2 diabetes mellitus; single nucleotide polymorphism; *GCLC*; *GCLM*; genetic predisposition.

Введение. Сахарный диабет – это серьезное хроническое заболевание, которое развивается, когда поджелудочная железа не вырабатывает достаточно инсулина или когда организм не способен эффективно использовать выработанный им инсулин [4]. В настоящее время каждый одиннадцатый житель планеты страдает диабетом, что в общем составляет 425 млн человек, три четверти которых – это люди трудоспособного возраста [12]. По предварительным оценкам исследования NATION, в нашей стране более 6 млн. больных, подавляющее большинство которых имеют диабет 2 типа [2]. Помимо стремительных темпов роста заболеваемости СД2, его характерными особенностями являются тенденция к омоложению возраста дебюта, относительно поздняя диагностика заболевания в связи с длительным бессимптомным течением и полиморбидность, особенно в сочетании с сердечно-сосудистыми заболеваниями и ожирением [3]. К моменту диагностики СД 2 типа у половины пациентов уже присутствуют осложнения, приводящие к снижению качества жизни, ранней инвалидизации и преждевременной смерти. СД 2 типа – это ведущая причина потери зрения, нетравматических ампутаций и развития терминальных стадий почечной недостаточности [1].

Сахарный диабет 2 типа (СД2) входит в группу мультифакториальной патологии и развивается в результате сочетанного действия генетических и средовых факторов. Согласно базе данных GeneCards, 564 гена ассоциированы с различными фенотипами СД2, такими как дисфункция бета-клеток поджелудочной железы и инсулинорезистентность периферических тканей. В результате пятидесяти трех полногеномных ис-

следований, установлено 720 однонуклеотидных вариантов, ассоциированных с заболеванием. Тем не менее, эта информация не дает полного представления о функциональной значимости обнаруженных полиморфизмов и их вклада в формирование того отрицательного метаболического фундамента, на фоне которого происходит манифестация заболевания.

Очень важным и широко обсуждаемым в литературе звеном патогенеза СД2 является нарушение работы антиоксидантной системы, главным представителем которой как внутри, так и вне клеток служит трипептид гамма-глутамилцистеинилглицин, или глутатион. Первым и единственным регуляторным ферментом глутатионового цикла выступает глутаматцистеинлигаза, состоящая из двух субъединиц – каталитической (GCLC) и модифицирующей (GCLM). Гены, кодирующие эти белки, полиморфны и вовлечены в патогенез таких заболеваний, как инфаркт миокарда и бронхиальная астма. Данные о возможном вкладе этих генов в развитии СД2 отсутствуют.

Целью настоящего исследования стало изучение связи полиморфизмов генов GCLC (-129 C>T, rs17883901) и GCLM (-588 C>T, rs41303970) с риском развития СД2 и про/антиоксидантным статусом жителей Курской области.

Материал и методы. На основе письменного информированного согласия в исследование включено 700 больных СД2 (269 мужчин и 431 женщина со средним возрастом 59,24±8,77 лет), получавших стационарное лечение в эндокринологическом отделении Курской городской клинической больницы скорой медицинской помощи с ноября 2015 по май 2017 года. Группу контроля со-

ставили 718 практически здоровых добровольцев (311 мужчин и 407 женщин со средним возрастом $58,61 \pm 7,65$ лет). Диагноз СД2 устанавливался на основании обнаружения гипергликемии $\geq 7,1$ ммоль/л натощак, или гипергликемии $\geq 11,1$ ммоль/л в любое время суток независимо от приема пищи, и/или уровня гликированного гемоглобина $\geq 6,5\%$ [4]. Лица контрольной группы имели нормальные показатели углеводного обмена. Все обследованные были уроженцами преимущественно Курской области и были неродственны друг другу. Протокол исследования был одобрен Региональным этическим комитетом при Курском государственном медицинском университете.

У всех обследуемых производили забор 6 мл венозной крови натощак в вакуумные пробирки с ЭДТА. Геномную ДНК выделяли стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции [14]. Генотипирование полиморфизмов генов *GCLC* и *GCLM* проводили с помощью полимеразно-цепной реакции в режиме реального времени с дискриминацией аллелей TaqMan зондами согласно протоколам, описанным в литературе [9, 11].

Для биохимических исследований, 6 мл венозной крови забирали в вакуумные пробирки с гепарином лития в качестве антикоагулянта и сразу же центрифугировали 10 минут при 3500 об./мин. с охлаждением до 4°C . Плазму для детекции перекиси водорода аликвотировали по 200 мкл и замораживали при -80°C . Плазму для определения содержания глутатиона предварительно депротеинизировали ледяным раствором 5%-ой метафосфорной кислоты и центрифугировали 10 минут при 12000 об./мин. Надо-

сачную жидкость аликвотировали по 100 мкл и замораживали при -80°C . Непосредственно перед анализом образцы разбавляли десятикратно для снижения концентрации метафосфорной кислоты до 0,5%. Концентрацию H_2O_2 измеряли флуориметрическим методом с использованием набора реагентов ROS/RNS OxiSelect CellBiolabs. Уровень GSSG оценивали колориметрически с помощью набора Total Glutathione CellBiolabs. Абсорбцию и флуоресценцию измеряли на микропланшетном ридере Varioscan Flash (Thermo Fisher Scientific).

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью онлайн программы SNPStats. Различия рассматривали как значимые при $p \leq 0,05$. Поправку на множественное тестирование вводили с использованием онлайн софта FDR Calculator при уровне значимости $Q \leq 0,2$ [6].

Результаты и обсуждение. В таблице 1 приведены данные по сравнительному анализу частот генотипов и аллелей изучаемых генов у больных СД2 и здоровых лиц. Частоты генотипов *GCLC* и *GCLM* между группами пациентов с СД2 и контроля не отличались ($p > 0,05$). При отдельном сравнении больных мужчин и женщин с контролем было выявлено, что генотипы С/Т и Т/Т гена *GCLC* ассоциированы с повышенным риском развития заболевания только в подгруппе мужчин (OR 1,65, 95CI 1,05-2,61, $p=0,03$) с учетом коррекции по полу, возрасту и индексу массы тела; также в группе больных СД2 мужчин обнаружено и более частое (10,4%) по сравнению со здоровыми (6,4%) носительство редкого аллеля Т гена *GCLC* (OR 1,69, 95CI 1,11-2,58, $p=0,02$).

Таблица 1

Сравнительный анализ частот генотипов и аллелей изучаемых генов

Table 1

Comparative analysis of frequencies of the studied gene genotypes and alleles

Ген	Генотип/ аллель	Группа больных		Контрольная группа		P	Q	OR	CI для OR
		n	%	n	%				
Общие выборки									
<i>GCLC</i> , -129 C>T (rs17883 901)	C/C	596	85,1	580	86,6	0,43	0,56	1,00	-
	C/T	93	13,3	84	12,5			1,09	0,79-1,50
	T/T	11	1,6	6	0,9			1,84	0,67-5,02
	C/T+T/T	104	14,9	90	13,4	0,40	0,56	1,14	0,84-1,55
	T	-	8,2	-	7,2	0,34	0,56	1,16	0,87-1,54
<i>GCLM</i> , -588 C>T (rs41303 970)	C/C	477	68,3	442	66,3	0,12	0,39	1,00	-
	C/T	193	27,6	182	27,3			0,98	0,77-1,25
	T/T	28	4,0	43	6,4			0,60	0,36-0,98
	C/T+T/T	221	31,7	225	33,7	0,39	0,56	0,91	0,72-1,14
	T	-	17,8	-	20,1	0,13	0,39	0,86	0,71-1,05
Мужчины									
<i>GCLC</i> , -129 C>T (rs17883 901)	C/C	218	81	268	87,6	0,07	0,36	1,00	-
	C/T	46	17,1	36	11,8			1,57	0,98-2,52
	T/T	5	1,9	2	0,6			3,08	0,59-16,03
	C/T+T/T	51	19,0	38	12,4	0,03	0,27	1,65	1,05-2,61
	T	-	10,4	-	6,4	0,02	0,27	1,69	1,11-2,58
<i>GCLM</i> , -588 C>T (rs41303 970)	C/C	180	66,9	204	67,3	0,50	0,56	1,00	-
	C/T	79	29,4	82	27,1			1,09	0,76-1,58
	T/T	10	3,7	17	5,6			0,67	0,30-1,49
	C/T+T/T	89	33,1	99	32,7	0,92	0,92	1,02	0,72-1,45
	T	-	18,4	-	19,0	0,80	0,85	0,96	0,71-1,29
Женщины									
<i>GCLC</i> , -129 C>T (rs17883 901)	C/C	378	87,7	312	85,7	0,50	0,56	1,00	-
	C/T	47	10,9	48	13,2			0,79	0,51-1,22
	T/T	6	1,4	4	1,1			1,33	0,37-4,80
	C/T+T/T	53	12,3	52	14,3	0,38	0,56	0,83	0,55-1,25
	T	-	6,8	-	7,8	0,47	0,56	0,87	0,59-1,27
<i>GCLM</i> , -588 C>T (rs41303 970)	C/C	297	69,2	238	65,4	0,16	0,41	1,00	-
	C/T	114	26,6	100	27,5			0,90	0,65-1,24
	T/T	18	4,2	26	7,1			0,55	0,30-1,04
	C/T+T/T	132	30,8	126	34,6	0,22	0,50	0,83	0,61-1,12
	T	-	17,5	-	21,0	0,08	0,36	0,80	0,62-1,02

Учитывая мультифакториальную природу СД2, нам представлялось важным оценить вклад курения как фактора риска в предрасположенность к развитию заболевания. Оказалось, что ассоциация генотипов С/Т и Т/Т гена *GCLC* с риском развития СД2 есть только в под-

группе больных диабетом курящих мужчин (OR 2,36, 95CI 1,19-4,65, $p=0,01$, таблица 2) и отсутствует у некурящих (таблица 3). Эта ассоциация осталась значимой и после поправки на множественное тестирование ($Q=0,12$).

Таблица 2

Сравнительный анализ частот генотипов изучаемых генов среди курящих

Table 2

Comparative analysis of frequencies of the studied gene genotypes and alleles in smokers

Ген	Генотип /аллель	Группа больных		Контрольная группа		P	Q	OR	CI для OR
		n	%	n	%				
Все курящие									
<i>GCLC</i> , -129 C>T (rs17883 901)	C/C	198	81,5	194	87,4	0,15	0,45	1,00	-
	C/T	39	16,1	26	11,7			1,52	0,88-2,60
	T/T	6	2,5	2	0,9	0,068	0,27	2,78	0,55-14,10
	C/T+T/T	45	18,5	28	12,6			1,61	0,96-2,70
<i>GCLM</i> , -588 C>T (rs41303 970)	C/C	162	66,9	148	67,3	0,31	0,62	1,00	-
	C/T	72	29,8	58	26,4			1,17	0,77-1,78
	T/T	8	3,3	14	6,4	0,78	0,85	0,57	0,23-1,42
	C/T+T/T	80	33,1	72	32,7			1,06	0,71-1,57
Курящие мужчины									
<i>GCLC</i> , -129 C>T (rs17883 901)	C/C	148	80,9	130	90,9	0,03	0,18	1,00	-
	C/T	30	16,4	12	8,4			2,19	1,08-4,45
	T/T	5	2,7	1	0,7	4,36	0,50-37,83		
	C/T+T/T	35	19,1	13	9,1	0,01	0,12	2,36	1,19-4,65
<i>GCLM</i> , -588 C>T (rs41303 970)	C/C	122	66,7	99	70,2	0,71	0,85	1,00	-
	C/T	55	30,1	37	26,2			1,23	0,74-2,02
	T/T	6	3,3	5	3,5	0,47	0,81	0,96	0,27-3,23
	C/T+T/T	61	33,3	42	29,8			0,19	0,74-1,92
Курящие женщины									
<i>GCLC</i> , -129 C>T (rs17883 901)	C/C	50	83,3	64	81	0,88	0,88	1,00	
	C/T	9	15	14	17,7			0,79	0,31-2,00
	T/T	1	1,7	1	1,3	0,88	0,05-15,38		
	C/T+T/T	10	16,7	15	19	0,62	0,82	0,80	0,33-1,96

Ген	Генотип /аллель	Группа больных		Контрольная группа		P	Q	OR	CI для OR
		n	%	n	%				
<i>GCLM</i> , -588 C>T (rs41303 970)	C/C	40	67,8	49	62	0,22	0,53	1,00	
	C/T	17	28,8	21	26,6			1,03	0,48-2,22
	T/T	2	3,4	9	11,4			0,28	0,06-1,40
	C/T+T/T	19	32,2	30	38	0,56	0,83	0,81	0,39-1,65

Таблица 3

Сравнительный анализ частот генотипов изучаемых генов среди некурящих

Table 3

**Comparative analysis of frequencies of the studied gene genotypes
and alleles in non-smokers**

Ген	Гено-тип/ аллель	Группа больных		Контрольная группа		P	Q	OR	CI для OR
		n	%	n	%				
Все некурящие									
<i>GCLC</i> , -129 C>T (rs1788 3901)	C/C	398	87,1	386	86,2	0,96	0,96	1,00	-
	C/T	54	11,8	58	12,9			0,95	0,63-1,43
	T/T	5	1,1	4	0,9			1,07	0,28-4,11
	C/T+T/T	59	12,9	62	13,8	0,83	0,91	0,96	0,65-1,42
<i>GCLM</i> , -588 C>T (rs4130 3970)	C/C	315	69,1	294	65,8	0,4	0,86	1,00	-
	C/T	121	26,5	124	27,7			0,92	0,68-1,24
	T/T	20	4,4	29	6,5			0,67	0,37-1,23
	C/T+T/T	141	30,9	153	34,2	0,35	0,86	0,87	0,65-1,16
Некурящие мужчины									
<i>GCLC</i> , -129 C>T (rs1788 3901)	C/C	70	81,4	143	85,1	0,47	0,86	1,00	-
	C/T	16	18,6	24	14,3			1,35	0,68-2,71
	T/T	0	0	1	0,6			0	-
	C/T+T/T	16	18,6	25	14,9	0,46	0,86	1,30	0,65-2,59
<i>GCLM</i> , -588 C>T (rs4130 3970)	C/C	58	67,4	109	65,3	0,73	0,91	1,00	-
	C/T	24	27,9	46	27,5			1,00	0,56-1,81
	T/T	4	4,7	12	7,2			0,63	0,19-2,05
	C/T+T/T	28	32,6	58	34,7	0,78	0,91	0,93	0,53-1,61
Некурящие женщины									
<i>GCLC</i> , -129 C>T	C/C	328	88,4	243	86,8	0,6	0,90	1,00	
	C/T	38	10,2	34	12,1			0,79	0,48-1,30
	T/T	5	1,4	3	1,1			1,28	0,30-5,42

Ген	Гено-тип/ аллель	Группа больных		Контрольная группа		P	Q	OR	CI для OR
		n	%	n	%				
(rs17883901)	C/T+T/T	43	11,6	37	13,2	0,43	0,86	0,83	0,52-1,33
GCLM, -588 C>T (rs41303970)	C/C	257	69,5	185	66,1	0,5	0,86	1,00	-
	C/T	97	26,2	78	27,9			0,88	0,62-1,26
	T/T	16	4,3	17	6,1			0,69	0,34-1,40
	C/T+T/T	113	30,5	95	33,9	0,33	0,86	0,85	0,61-1,18

Анализ биохимических показателей редокс-статуса обследуемых показал, что уровни перекиси водорода и окисленного глутатиона значимо выше в группе пациентов с СД2 (p=0,024 и 0,004, соответственно) по сравнению с контролем (таблица 4). Это же характерно и для подгруппы больных СД2 муж-

чин. Стратификационный анализ концентрации H₂O₂ и GSSG по курению выявил значимо более высокие уровни этих показателей у всех курящих в общем и курящих мужчин в частности (таблица 5); в группе некурящих различий по содержанию H₂O₂ и GSSG обнаружено не было (таблица 6).

Таблица 4

Концентрации H₂O₂ и GSSG в плазме больных СД2 и здоровых лиц

Table 4

H₂O₂ and GSSG plasma levels in T2D patients and healthy subjects

Параметр, мкмоль/л	Группа больных		Контрольная группа			
	Ср.±ст.ош.	n	Ср.±ст.ош.	n	P	Q
Общая выборка						
H ₂ O ₂	3,23±1,35	214	2,76±1,21	50	0,024	0,036
GSSG	2,28±1,69	208	1,45±1,43	40	0,004	0,012
Мужчины						
H ₂ O ₂	3,12±1,15	68	2,27±1,07	20	0,004	0,012
GSSG	2,41±1,71	67	1,16±0,92	15	0,008	0,016
Женщины						
H ₂ O ₂	3,28±1,43	146	3,08±1,20	30	0,48	0,48
GSSG	2,23±1,68	141	1,62±1,66	25	0,10	0,12

Таблица 5

Концентрации H₂O₂ и GSSG в плазме курящих больных СД2 и здоровых лиц

Table 5

H₂O₂ and GSSG plasma levels in T2D patients-smokers and healthy subjects

Группа больных			Контрольная группа			
Параметр, мкмоль/л	Ср.±ст.ош.	n	Ср.±ст.ош.	n	P	Q
Все курящие						
H ₂ O ₂	3,23±1,14	62	2,51±1,20	15	0,03	0,06
GSSG	2,24±1,73	60	0,92±0,98	11	0,007	0,04
Курящие мужчины						
H ₂ O ₂	3,17±1,05	42	2,36±1,03	11	0,03	0,06
GSSG	2,41±1,71	39	1,03±1,25	7	0,049	0,57
Курящие женщины						
H ₂ O ₂	3,36±1,31	20	2,93±1,71	4	0,57	0,57
GSSG	2,44±1,81	21	0,73±0,11	4	0,08	0,12

Таблица 6

Концентрации H₂O₂ и GSSG в плазме некурящих больных СД2 и здоровых лиц

Table 6

H₂O₂ and GSSG plasma levels in T2D patients non-smokers and healthy subjects

Группа больных			Контрольная группа			
Параметр, мкмоль/л	Ср.±ст.ош.	n	Ср.±ст.ош.	n	P	Q
Все некурящие						
H ₂ O ₂	3,23±1,43	152	2,86±1,22	35	0,16	0,24
GSSG	2,23±1,67	148	1,64±1,54	29	0,08	0,16
Некурящие мужчины						
H ₂ O ₂	3,04±1,32	26	2,15±1,19	9	0,08	0,16
GSSG	2,40±1,75	28	1,27±0,56	8	0,08	0,16
Некурящие женщины						
H ₂ O ₂	3,27±1,46	126	3,11±1,15	26	0,60	0,60
GSSG	2,19±1,66	120	1,78±1,77	21	0,31	0,37

Результаты нашего исследования впервые наглядно демонстрируют значимую ассоциацию генотипа Т/Т гена *GCLC* с повышенным риском развития СД2 у мужчин. Эта ассоциация обнаружена и в подгруппе курящих мужчин, больных СД2. Уровень окисленного глутатиона нами был использован как маркер прооксидантной составляющей редокс-статуса обследуемых лиц.

Роль полиморфизмов *GCLC* и *GCLM* в патогенезе СД2 связана со снижением активности промоторов изучаемых генов у носителей аллелей Т по сравнению с носителями диких аллелей С при воздействии активных форм кислорода, что было убедительно показано в работах японских исследовательских групп [13, 15]. Снижение экспрессии регуляторного фермента глутаматцистеинлигазы при-

водит к снижению синтеза глутатиона, способствуя формированию окислительного стресса и, как следствие, повышению чувствительности клеток к различным повреждающим факторам, таким как свободные радикалы, перекисные соединения и токсичные компоненты табачного дыма. Бета-клетки островков Лангерганса поджелудочной железы более других страдают в этих условиях ввиду исходно низкого содержания антиоксидантов [20]. Накопление активных форм кислорода оказывает ингибирующее влияние на экспрессию гена инсулина путем репрессии двух ключевых транскрипционных факторов, Maf A и PDX-1, [8, 10] а также запускает апоптоз путем активации киназ ASK-1 и JNK [17, 19, 21]. Усиление апоптоза приводит к необратимому снижению массы функционирующих β -клеток [22] и нарастанию хронической гипергликемии, классического диагностического признака СД2.

Важным дополнительным по отношению к описанным выше механизмом действия свободнорадикальных соединений является активация экспрессии эндотелина I и ангиотензина II, которые связываются с рецепторами протеинкиназы C, увеличивая таким образом фосфорилирование сериновых и треониновых остатков β -субъединиц инсулинового рецептора с последующим торможением фосфорилирования тирозиновых остатков субстрата инсулинового рецептора 1 (СИР-1) и угнетением ферментативной активности фосфатидилинозитол-3-киназы, продуцирующей фосфатидилинозитолтрифосфат [7]. В результате отсутствия этого вторичного посредника рецепции инсулина, первичные эффекты действия гормона (активация глюкозных транспортеров ГЛЮТ и де-

фосфорилирование ключевых ферментов межучасточного обмена) на пострецепторном уровне не реализуются, что приводит к развитию феномена инсулинорезистентности периферических тканей, ограничению потребления глюкозы скелетными миоцитами и адипоцитами и усугублению гипергликемии.

Выявленная нами ассоциация генотипа T/T гена *GCLC* с предрасположенностью к СД2 в подгруппе мужчин была установлена у курящих больных и отсутствовала у некурящих пациентов. Аналогичным образом вели себя и биохимические показатели редокс-статуса обследуемых: окисленный глутатион и перекись водорода были значимо повышены в группе больных СД2 мужчин и подгруппе больных мужчин-курильщиков. Следует отметить, что доля курящих среди мужчин составила 75,3%, а среди женщин – 8,9%. Курение является известным фактором риска развития СД2 [5] из-за стимуляции генерации чрезвычайно реакционноспособных радикалов и прямого токсического действия на клетки поджелудочной железы и другие ткани, метаболические нарушения которых патогенетически связаны с заболеванием [18]. Повышение концентрации активных форм кислорода при СД2 было установлено и в других исследованиях [16, 23], но ни в одном из них не проводился анализ их содержания отдельно у мужчин и женщин.

Выводы:

1. Полиморфный локус гена *GCLC* (rs17883901) ассоциирован с повышенным риском развития СД2 у мужчин Курской области.

2. Редокс статус больных СД2 мужчин характеризуется повышенным содержанием перекиси водорода H_2O_2 в плазме крови и накоплением димера окисленного глутатиона GSSG.

3. Курение и носительство редкого аллеля Т гена *GCLC* (rs17883901) увеличивают риск развития СД2 у мужчин и способствуют формированию дисбаланса в про- и антиоксидантной системе.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Аметов А.С., Соловьева О.Л. Окислительный стресс при сахарном диабете 2-го типа и пути его коррекции // Проблемы эндокринологии. 2011. Т. 57, № 6. С. 52-56.
2. Дедов И.И., Шестакова М.В., Галстян Г.Р. Распространенность сахарного диабета 2 типа у взрослого населения России (исследование NATION) // Сахарный диабет. 2016. Т. 19, № 2. С. 104-112.
3. Инициация и интенсификация сахароснижающей терапии у больных сахарным диабетом 2 типа: обновление консенсуса совета экспертов Российской ассоциации эндокринологов (2015 г.) / И.И. Дедов, М.В. Шестакова, А.С. Аметов, М.Б. Анциферов, Г.Р. Галстян, А.Ю. Майоров, А.М. Мкртумян, Н.А. Петунина, О.Ю. Сухарева // Сахарный диабет. 2015. Т. 18, № 1. С. 5-23.
4. Alberti K.G.M.M., Zimmet P.F. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation // Diabetic medicine. 1998. 15(7). Pp. 539-553.
5. American Diabetes Association. Smoking and diabetes // Diabetes Care. 2003. 26(1). Pp. 89-91.
6. Benjamini Y., Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing // Journal of the royal statistical society. Series B (Methodological). 1995. Pp. 289-300.
7. 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). Pp. 316-331.
8. Guo S., Dai C., Guo M. Inactivation of specific cell transcription factors in type 2 diabetes // The Journal of clinical investigation. 2013. 123(8). Pp. 3305-3316.
9. Hanzawa R., Ohnuma T., Nagai Y., Shibata N., Maeshima H., Baba H., Arai H. No association between glutathione-synthesis-related genes and Japanese schizophrenia // Psychiatry and clinical neurosciences. 2011. 65(1). Pp. 39-46.
10. Harmon J.S., Stein R., Robertson R.P. Oxidative stress-mediated, post-translational loss of MafA protein as a contributing mechanism to loss of insulin gene expression in glucotoxic beta cells // J Biol Chem. 2005. 280. Pp. 11107-11113.
11. Hashemi M., Hoseini H., Yaghmaei P., Moazeni-Roodi A., Bahari A., Hashemzahi, N., Shafieipour S. Association of polymorphisms in glutamate-cysteine ligase catalytic subunit and microsomal triglyceride transfer protein genes with nonalcoholic fatty liver disease // DNA and cell biology. 2011. 30(8). Pp. 569-575.
12. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas 8th Edition Brussels, Belgium. idf.org. 2017. Pp. 1-4.
13. Koide S.I., Kugiyama K., Sugiyama S., Nakamura S.I., Fukushima H., Honda O., Ogawa H. Association of polymorphism in glutamate-cysteine ligase catalytic subunit gene with coronary vasomotor dysfunction and myocardial infarction // Journal of the American College of Cardiology. 2003. 41(4). Pp. 539-545.
14. Maniatis T. Molecular cloning // A Laboratory Manual, 1982.
15. Nakamura S.I., Kugiyama K., Sugiyama S., Miyamoto S., Koide S.I., Fukushima H., Ogawa H. Polymorphism in the 5'-flanking region of human glutamate-cysteine ligase modifier subunit gene is associated with myocardial infarction // Circulation. 2002. 105(25). Pp. 2968-2973.
16. Nourooz-Zadeh J., Tajaddini-Sarmadi J., McCarthy S., Betteridge D.J., Wolff S.P. Elevated levels of authentic plasma hydroper-

oxides in NIDDM // *Diabetes*. 1995. 44. Pp. 1054-1058.

17. Palit S., Kar S., Sharma G., Das P.K. Hesperetin induces apoptosis in breast carcinoma by triggering accumulation of ROS and activation of ASK1/JNK pathway // *Journal of cellular physiology*. 2015. 230(8). Pp. 1729-1739.

18. Pan A., Wang Y., Talaei M., Hu F.B., Wu T. Relation of active, passive, and quitting smoking with incident type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis // *The lancet Diabetes & endocrinology*. 2015. 3(12). Pp. 958-967.

19. Shiizaki S., Naguro I., Ichijo H. Activation mechanisms of ASK1 in response to various stresses and its significance in intracellular signaling // *Advances in biological regulation*. 2013. 53(1). Pp. 135-144.

20. Tiedge M., Lortz S., Drinkgern J. Relation between antioxidant enzyme gene expression and antioxidant defense status of insulin-producing cells // *Diabetes*. 1997. 46(11). Pp. 1733-1742.

21. Watanabe T., Sekine S., Naguro I., Sekine Y., Ichijo H. Apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1)-p38 pathway-dependent cytoplasmic translocation of the orphan nuclear receptor NR4A2 is required for oxidative stress-induced necrosis // *Journal of Biological Chemistry*. 2015. 290(17). Pp. 10791-10803.

22. 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). Pp. 308-314.

23. Yoshida K., Hirokawa J., Tagami S., Kawakami Y., Urata Y., Kondo T. Weakened cellular scavenging activity against oxidative stress in diabetes mellitus: regulation of glutathione synthesis and efflux // *Diabetologia*. 1995. 38. Pp. 201-210.

References

1. Ametov, A.S., Solovieva, O.L. (2011), "Okislitel'nyy stress pri sakharnom diabete 2-go tipa i puti yego korrektsii" [Oxidative stress in type 2 diabetes mellitus and ways of its correc-

tion], *Problemy endokrinologii*, 57(6), 52-56. *Russian*.

2. Dedov, I.I., Shestakova, M.V., Galstyan, G.R. (2016), "Rasprostranennost' sakharnogo diabeta 2 tipa u vzroslogo nasele-niya Rossii (issledovaniye NATION)" [The prevalence of type 2 diabetes mellitus in the adult population of Russia (NATION study)], *Sakharnyy diabet*, 19(2), 104-112. *Russian*.

3. Dedov, I.I., Shestakova, M.V., Ametov, A.S., Antsiferov, M.B., Galstyan, G.R., Mayorov, A.Yu., Mkrtumyan, A.M., Petunina, N.A., Sukhareva, O.Yu. (2015), "Initsiatsiya i intensivatsiya sakharnoznizhayushchey terapii u bol'nykh sakharnym diabetom 2 tipa: ob-novleniye konsensusa soveta ekspertov Ros-siyskoy assotsiatsii endokrinologov (2015 g.)" [Initiation and intensification of antihyperglycemic therapy in type 2 diabetes mellitus: Up-date of the Russian Association of Endocrinol-ogists expert consensus document (2015)], *Sakharnyy diabet*, 18(1), 5-23. *Russian*.

4. Alberti, K.G.M.M., Zimmet, P.F. (1998), "Definition, diagnosis and classifica-tion of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consul-tation", *Diabetic medicine*, 15(7), 539-553.

5. American Diabetes Association. *Smok-ing and diabetes*, *Diabetes Care*. (2003), 26(1), 89-91.

6. Benjamini, Y., Hochberg, Y. (1995), "Controlling the false discovery rate: a practi-cal and powerful approach to multiple test-ing", *Journal of the royal statistical society. Series B (Methodological)*, 289-300.

7. Chang, Y.C., Chuang, L.M. (2010) "The role of oxidative stress in the pathogene-sis of type 2 diabetes: from molecular mecha-nism to Clinical implication", *Am J Transl Res*, 2(3), 316-331.

8. Guo, S., Dai, C., Guo M. (2013), "Inac-tivation of specific β cell transcription factors in type 2 diabetes", *The Journal of clinical in-vestigation*, 123(8), 3305-3316.

9. Hanzawa, R., Ohnuma, T., Nagai, Y., Shibata, N., Maeshima, H., Baba, H., Arai, H. (2011), "No association between glutathi-

one-synthesis-related genes and Japanese schizophrenia”, *Psychiatry and clinical neurosciences*, 65(1), 39-46.

10. Harmon, J.S., Stein, R., Robertson, R.P. (2005), “Oxidative stress-mediated, post-translational loss of MafA protein as a contributing mechanism to loss of insulin gene expression in glucotoxic beta cells”, *J Biol Chem*, 280, 11107-11113.

11. Hashemi, M., Hoseini, H., Yaghmaei, P., Moazeni-Roodi, A., Bahari, A., Hashemzahi, N., Shafieipour, S. (2011), “Association of polymorphisms in glutamate-cysteine ligase catalytic subunit and microsomal triglyceride transfer protein genes with nonalcoholic fatty liver disease”, *DNA and cell biology*, 30(8), 569-575.

12. *International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas 8th Edition* (2017). Brussels: Belgium. idf.org, 1-4.

13. Koide, S.I., Kugiyama, K., Sugiyama, S., Nakamura, S.I., Fukushima, H., Honda, O., Ogawa, H. (2003), “Association of polymorphism in glutamate-cysteine ligase catalytic subunit gene with coronary vasomotor dysfunction and myocardial infarction”, *Journal of the American College of Cardiology*, 41(4), 539-545.

14. Maniatis T. (1982), “Molecular cloning”, *A Laboratory Manual*.

15. Nakamura, S.I., Kugiyama, K., Sugiyama, S., Miyamoto, S., Koide, S.I., Fukushima, H., Ogawa, H. (2002), “Polymorphism in the 5'-flanking region of human glutamate-cysteine ligase modifier subunit gene is associated with myocardial infarction”, *Circulation*, 105(25), 2968-2973.

16. Nourooz-Zadeh, J., Tajaddini-Sarmadi, J., McCarthy, S., Betteridge, D.J., Wolff, S.P. (1995), “Elevated levels of authentic plasma hydroperoxides in NIDDM”, *Diabetes*, 44, 1054-1058.

17. Palit, S., Kar, S., Sharma, G., Das, P.K. (2015), “Hesperetin induces apoptosis in breast carcinoma by triggering accumulation of ROS and activation of ASK1/JNK pathway”, *Journal of cellular physiology*, 230(8), 1729-1739.

18. Pan, A., Wang, Y., Talaei, M., Hu, F.B., Wu, T. (2015), “Relation of active, passive, and quitting smoking with incident type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis”, *The lancet Diabetes & endocrinology*, 3(12), 958-967.

19. Shiizaki, S., Naguro, I., Ichijo, H. (2013), “Activation mechanisms of ASK1 in response to various stresses and its significance in intracellular signaling”, *Advances in biological regulation*, 53(1), 135-144.

20. Tiedge, M., Lortz, S., Drinkgern, J. (1997), “Relation between antioxidant enzyme gene expression and antioxidant defense status of insulin-producing cells”, *Diabetes*. 46(11), 1733-1742.

21. Watanabe, T., Sekine, S., Naguro, I., Sekine, Y., Ichijo, H. (2015), “Apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1)-p38 pathway-dependent cytoplasmic translocation of the orphan nuclear receptor NR4A2 is required for oxidative stress-induced necrosis”, *Journal of Biological Chemistry*, 290(17), 10791-10803.

22. Wright, E., Scism-Bacon, J.L., Glass, L.C. (2006), “Oxidative stress in type 2 diabetes: the role of fasting and postprandial glycaemia”, *Int. J. Clin. Pract*, 60(3), 308-314.

23. Yoshida, K., Hirokawa, J., Tagami, S., Kawakami, Y., Urata, Y., Kondo, T. (1995), “Weakened cellular scavenging activity against oxidative stress in diabetes mellitus: regulation of glutathione synthesis and efflux”, *Diabetologia*, 38, 201-210.

Азарова Юлия Эдуардовна – доцент кафедры биологической химии КГМУ; заведующая лабораторией биохимической генетики и метаболомики НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии КГМУ, кандидат медицинских наук.

Клесова Елена Юрьевна – инженер-биотехнолог НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии КГМУ.

Конопля Александр Иванович – заведующий кафедрой биологической химии КГМУ, доктор медицинских наук, профессор.

Azarova Yuliya Eduardovna – Associate Professor, Department of Biological Chemistry, Kursk State Medical University; Head of the Laboratory of Biochemical Genetics and Metabolomics, Research Institute for Genetic and Molecular Epidemiology, Kursk State Medical University, PhD in Medicine.

Klyosova Elena Yurevna – Engineer-biotechnologist, Research Institute for Genetic and Molecular Epidemiology, Kursk State Medical University.

Konoplya Alexander Ivanovich – Head of the Department of Biological Chemistry, Kursk State Medical University, Holder of Na-bilitation Degree in Medicine, Professor.