

ПОЛИМОРФНЫЕ ВАРИАНТЫ ГЕНА НЕЙТРОФИЛЬНОГО ЦИТОЗОЛЬНОГО ФАКТОРА 2: АССОЦИИИ С ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬЮ К САХАРНОМУ ДИАБЕТУ 2-го ТИПА И КАРДИОВАСКУЛЯРНОЙ АВТОНОМНОЙ НЕЙРОПАТИИ

© 2022 г. Ю. Э. Азарова¹, *, Е. Ю. Клёсова¹, И. И. Коломеец¹, А. В. Полоников¹

¹Курский государственный медицинский университет, Курск, 305041 Россия

*e-mail: azzzzar@yandex.ru

Поступила в редакцию 24.11.2021 г.

После доработки 08.12.2021 г.

Принята к публикации 14.12.2021 г.

В исследование было включено 3206 неродственных индивидов славянского происхождения (1579 пациентов с СД2, в том числе 535 человек с кардиоваскулярной автономной нейропатией, и 1627 здоровых добровольцев). Генотипирование SNPs выполнено на геномном времяпролетном масс-спектрометре MassARRAY Analyzer 4. Статистическую обработку полученных данных выполняли с помощью программы SNPStats. Установлена ассоциация генотипа rs17849502-G/T *NCF2* с повышенным риском развития СД2 (OR = 1.42, 95% CI = 1.08–1.87, *P* = 0.043). При стратифицированном по индексу массы тела (ИМТ) анализе частот генотипов *NCF2* обнаружено, что генотип rs17849502-G/T значимо чаще встречался только у пациентов с избыточной массой тела и ожирением (OR = 1.34, 95% CI = 1.01–1.77, *P* = 0.012). Кроме того, выявлены ассоциации генотипов rs789180-A/T (OR = 1.46, 95% CI = 1.11–1.92, *P* = 0.015) и rs10911363-G/T (OR = 0.77, 95% CI = 0.61–0.97, *P* = 0.046) с кардиоваскулярной автономной нейропатией при СД2, не зависящие от пола, возраста и ИМТ пациентов. Анализ влияния полиморфизма *NCF2* на биохимические показатели плазмы крови показал, что носители гаплотипа H5 rs796860A-rs789180T-rs17849502G-rs2274064C-rs10911363G-rs147415774C-rs2274065A-rs3754515C имели на 4.81% более высокое содержание гликированного гемоглобина (95% CI = 2.63–6.98, *P* < 0.0001) по сравнению с носителями референсного гаплотипа H1 rs796860A-rs789180A-rs17849502G-rs2274064T-rs10911363G-rs147415774C-rs2274065A-rs3754515C. Таким образом, нами впервые выявлены ассоциации rs17849502 гена *NCF2* с развитием СД2, а также ассоциации rs789180 и rs10911363 с кардиоваскулярной автономной нейропатией. Полученные данные свидетельствуют о значимом вкладе полиморфизма гена *NCF2* в патогенез СД2 и создают научный задел для дальнейших исследований по изучению генетико-биохимических нарушений системы редокс-гомеостаза при сахарном диабете 2-го типа.

Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типа, диабетическая дистальная нейропатия, кардиоваскулярная автономная нейропатия, нейтрофильный цитозольный фактор 2, НАДФН-оксидаза, однонуклеотидный полиморфизм.

DOI: 10.31857/S0016675822050034

По данным Международной федерации диабета за 2019 г. один из 11 взрослых в возрасте от 20 до 79 лет страдает сахарным диабетом, что в планетарном масштабе составляет 463 млн человек. В Российской Федерации 8.2 млн больных, причем более 90% из них страдают сахарным диабетом 2-го типа (СД2) [1].

В ряде отечественных и зарубежных исследований показано, что окислительный стресс служит движущей силой развития как самого СД2, так и его микрососудистых и макрососудистых осложнений, включая диабетическую нейропатию, одна из форм которой – кардиоваскулярная автономная нейропатия (КАН). Последняя явля-

ется одним из прямых осложнений СД2 и обнаруживается у 11.7% пациентов с впервые выявленным диабетом [2]. Поражение сердечно-сосудистой системы при КАН связано с ухудшением качества жизни, ранней инвалидизацией и пятикратным увеличением смертности в этой категории больных [3].

Последние исследования в области редокс-биологии доказали существование так называемого порочного круга генерации активных форм кислорода (АФК), в котором избыточное образование супероксид-аниона $O_2^{\cdot-}$ и перекиси водорода H_2O_2 НАДФН-оксидазой (NOX) приводит к

нарушению функционирования митохондрий и увеличению продукции O_2^- в цепи переноса электронов [4]. Следует отметить, что целый ряд белков-мишеней инсулинового сигналинга и его регуляторов (AKT, FOXO, PTEN, PT1B, JNK, GAB1) являются редокс-чувствительными. Увеличение продукции АФК в условиях дефицита антиоксидантов приводит к изменению редокс-статуса периферических белков и инсулинорезистентности периферических тканей [5], а также к торможению пролиферации бета-клеток поджелудочной железы с последующим запуском их апоптоза и дедифференцировки, что лежит в основе прогрессирующей потери функционирующей массы бета-клеток и снижения секреции инсулина [6].

Нейтрофильный цитозольный фактор 2 является связанной с мембраной субъединицей НАДФН-оксидазы, необходимой для активации фермента, и кодируется геном *NCF2* [7]. В литературе описано участие цитохрома CУВА, белка-компонента мультиферментного комплекса НАДФН-оксидазы и ее изоформ NOX2 и NOX4 в патогенезе СД2 [8–11], тогда как данные о роли *NCF2* в развитии СД2 и его осложнений отсутствуют. В этой связи целью настоящего исследования стало изучение ассоциаций восьми однонуклеотидных полиморфных вариантов гена *NCF2* rs796860 (A>C), rs789180 (A>T), rs17849502 (G>T), rs2274064 (T>C), rs10911363 (G>T), rs147415774 (C>T), rs2274065 (A>C) и rs3754515 (C>A) с предрасположенностью к СД2, а также с риском развития кардиоваскулярной автономной нейропатии у пациентов с СД2.

МАТЕРИАЛЫ И 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 1579 пациентов с СД2 (591 мужчина и 988 женщин, средний возраст 61.3 ± 10.4 года), получавших стационарное лечение на базе эндокринологического отделения Курской городской клинической больницы скорой медицинской помощи в период с декабря 2016 по октябрь 2019 г. У 535 больных СД2 по результатам прикроватных тестов (оценка частоты сердечных сокращений (ЧСС) в покое, вариации ЧСС, реакции ЧСС и артериального давления в ответ на ортостатическую пробу, реакции диастолического АД в ответ на изометрическую нагрузку и пробы Вальсальвы [12]) была диагностирована кардиоваскулярная автономная нейропатия. 1627 условно здоровых добровольцев (601 мужчина и 1026 женщин, средний возраст 60.8 ± 6.4 года) составили группу контроля. Исследуемые группы были сопоставимы как по полу, так и по возрасту. Клинико-лабораторные показатели участников исследования

представлены в табл. 1. Критерии включения в группу больных: 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: выраженная степень декомпенсации СД2 или кома, заболевания экзокринной части поджелудочной железы, опухоли поджелудочной железы, муковисцидоз, гемохроматоз, фиброкалькулезная панкреатопатия, эндокринопатии, генетические синдромы, сочетающиеся с СД (полный перечень приведен ранее [13, 14]), а также возраст младше 35 лет и отсутствие письменного информированного согласия на участие в проекте. Критерии включения лиц в группу контроля: возраст старше 35 лет, нормальные значения гликемии согласно ВОЗ, 1999–2013, отсутствие тяжелых хронических заболеваний, наличие письменного информированного согласия. Критерии исключения из группы контроля: возраст младше 35 лет, гипергликемии в анамнезе, наличие тяжелых хронических заболеваний, отсутствие письменного информированного согласия.

Для проведения генетических исследований у всех пациентов с СД2 и здоровых лиц на основе письменного информированного согласия проводили забор 5 мл венозной крови натощак в вакуумные пробирки Vacuette с ЭДТА в качестве антикоагулянта. Геномную ДНК выделяли колоночным методом с помощью набора QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen) на автоматической станции для экстракции белков и нуклеиновых кислот QiaCube (Qiagen), а также методом фенольно-хлороформной экстракции. Для молекулярно-генетического анализа было отобрано восемь однонуклеотидных вариантов гена *NCF2* с выраженным регуляторным потенциалом, а именно rs796860 (A>C), rs789180 (A>T), rs17849502 (G>T), rs2274064 (T>C), rs10911363 (G>T), rs147415774 (C>T), rs2274065 (A>C) и rs3754515 (C>A). Генотипирование SNPs гена *NCF2* проводили с использованием технологии iPLEX на геномном времяпролетном масс-спектрометре MassARRAY Analyzer 4 (Agena Bioscience). Дизайн мультиплекса SNPs и подбор праймеров для ПЦР и iPLEX реакций осуществляли с помощью онлайн программы MassARRAY Assay Design Suite (<https://agenacx.com>). Праймеры были синтезированы компанией Evrogen (Москва). Содержание перекиси водорода H_2O_2 и окисленного глутатиона GSSG в плазме крови участников исследования определяли флуориметрическим и колориметрическим методом с помощью наборов OxiSelect ROS/RNS Assay kit (Cell Biolabs) и OxiSelect GSH/GSSG Assay kit (Cell Biolabs) соответственно, на микропланшетном ридере Varioscan Flash (Thermo Fisher Scientific). Концентрации глюкозы, гликированного гемоглобина,

Таблица 1. Клинико-лабораторные показатели участников исследования

Параметры сравнения	Контроль, <i>n</i> = 1627	Больные СД2, <i>n</i> = 1579	<i>P</i> *
Возраст, ср, ± ст. от.	60.8 ± 6.4	61.3 ± 10.4	0.34
Мужчины, <i>n</i> (%)	601 (36.9)	591 (37.4)	0.77
Женщины, <i>n</i> (%)	1026 (63.1)	988 (62.6)	
Индекс массы тела (кг/м ²), ср. ± ст. от.	27.22 ± 3.55	31.94 ± 6.65	0.001
Курящие, <i>n</i> (%)	504 (31.0)	411 (26.0)	0.004
Стаж диабета, Ме [Q1; Q3]	–	9.0 [3.0; 15.0]	–
Кардиоваскулярная автономная нейропатия	535	–	–
Наследственная отягощенность, <i>n</i> (%)	33 (2.0)	611 (38.7)	<0.0001
НбА1С (%), Ме [Q1; Q3]	4.58 [4.11; 4.87]	9.02 [7.70; 10.80]	<0.0001
Глюкоза крови натощак, Ме [Q1; Q3]	4.71 [4.39; 4.84]	12.20 [9.70; 15.20]	<0.0001
Общий холестерин (ммоль/л), Ме [Q1; Q3]	3.06 [2.86; 3.12]	5.10 [4.27; 6.09]	<0.0001
ЛПН (ммоль/л), Ме [Q1; Q3]	1.74 [1.60; 1.79]	3.03 [2.40; 4.05]	<0.0001
ЛВП (ммоль/л), Ме [Q1; Q3]	1.47 [1.36; 1.62]	0.85 [0.74; 1.07]	<0.0001
ТАГ (ммоль/л), Ме [Q1; Q3]	1.15 [0.98; 1.23]	2.20 [1.55; 3.00]	<0.0001

Примечание. НбА1С – гликированный гемоглобин; ЛНП – липопротеины низкой плотности; ЛВП – липопротеины высокой плотности; ТАГ – триацилглицеролы; * полужирным шрифтом выделены статистически значимые *P*.

триглицеридов, общего холестерина и его подфракций (липопротеинов низкой и высокой плотности) оценивали с помощью биохимических наборов фирмы Диакон-ДС на полуавтоматическом биохимическом анализаторе Ral-15.

Влияние полиморфных вариантов генов на биохимические показатели анализировалось методом линейного регрессионного анализа с поправкой на пол, возраст и индекс массы тела. Статистическую обработку полученных данных проводили методом логистической регрессии с поправками на возраст и индекс массы тела, с помощью онлайн программы SNPStats (<https://www.snpstats.net/>). 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.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Распределение частот генотипов в исследуемой популяции соответствовало равновесию Харди–Вайнберга ($P > 0.05$). Согласно данным проекта “1000 Genomes”, депонированным в Ensembl (<https://www.ensembl.org/>), частоты минорных аллелей пяти вариантов – rs796860-С, rs789180-Т, rs17849502-Т, rs2274064-С и rs10911363-Т были сопоставимы с таковыми в европейской популяции. Минорный аллель rs147415774-Т *NCF2* характеризовался крайне низкой частотой у жителей Центральной России (0.0016) и не встречался у представителей других популяций. Достаточно выраженные

межпопуляционные различия ($P < 0.0001$) в частоте альтернативного аллеля установлены и в отношении полиморфного варианта rs2274065 *NCF2*: частота аллеля С у жителей Центральной России была ниже, чем у представителей европейской, американской, африканской и восточно-азиатской популяций, однако была сопоставима с частотой аллеля rs2274065-С в южно-азиатской популяции. Частота аллеля rs3754515-А *NCF2* значительно отличалась от всех исследованных в проекте “1000 Genomes” популяций.

В табл. 2 представлены результаты анализа гаметического неравновесия по сцеплению SNPs гена *NCF2*. Лocus rs796860 находился в отрицательном LD с rs789180 ($D' = 0.9949$, $D = -0.0133$, $P < 2 \times 10^{-16}$), rs17849502 ($D' = 0.8445$, $D = -0.0044$, $P < 1.58 \times 10^{-7}$), rs2274064 ($D' = 0.9787$, $D = -0.0531$, $P < 2 \times 10^{-16}$) и с rs10911363 ($D' = 0.9759$, $D = -0.0336$, $P < 2 \times 10^{-16}$). Кроме того, SNPs rs17849502 ($D' = 0.9912$, $D = -0.0052$, $P = 8.52 \times 10^{-10}$) и rs10911363 ($D' = 0.8191$, $D = -0.0283$, $P < 2 \times 10^{-16}$) находились в отрицательном неравновесии по сцеплению с rs789180. Также rs147415774 был в отрицательном LD с rs3754515 ($D' = 0.9210$, $D = -0.0005$, $P = 0.02$). SNP rs2274064 был сцеплен с rs789180 ($D' = 0.9878$, $D = 0.0606$, $P < 2 \times 10^{-16}$), rs17849502 ($D' = 0.9888$, $D = 0.0238$, $P < 2 \times 10^{-16}$) и rs10911363 ($D' = 0.9500$, $D = 0.1501$, $P < 2 \times 10^{-16}$). Последние два SNPs были также сцеплены между собой ($D' = 0.9664$, $D = 0.0308$, $P < 2 \times 10^{-16}$).

В табл. 3 представлены результаты анализа ассоциаций изучаемых SNPs гена *NCF2* с предрасполо-

Таблица 2. Неравновесие по сцеплению между полиморфными вариантами гена *NCF2*

SNPID	rs796860	rs789180	rs17849502	rs2274064	rs10911363	rs147415774	rs2274065	rs3754515
rs796860		-0.0133	-0.0044	-0.0531	-0.0336	0.0001	-0.0029	-0.0263
		0.9949	0.8445	0.9787	0.9759	0.048	0.5478	0.6065
rs789180			-0.0052	0.0606	-0.0283	0.0001	0.0197	-0.0051
			0.9912	0.9878	0.8191	0.7432	0.4924	0.1165
rs17849502				0.0238	0.0308	0	-0.0009	-0.0034
				0.9888	0.9664	0.0108	0.4165	0.198
rs2274064					0.1501	0.0006	0.0105	-0.0618
					0.95	0.7008	0.4383	0.3481
rs10911363						0.0009	-0.0075	-0.0743
						0.792	0.5556	0.6601
rs147415774							0	-0.0005
							0.343	0.921
rs2274065								0.027
								0.957

Примечание. Показатели неравновесия по сцеплению между SNPs: верхние ячейки – *D* (заливка серым), нижние – *D'*. Представлены только статистически значимые показатели неравновесия по сцеплению ($P < 6.7 \times 10^{-6}$).

женностью к СД2. Как видно из табл. 3, генотип rs17849502-T/T *NCF2* (OR = 1.42, 95% CI = 1.08–1.87, $P = 0.043$) ассоциировался с повышенным риском развития СД2. При анализе частот гаплотипов *NCF2* (табл. 4) у больных и здоровых участников исследования, статистически значимых ассоциаций какого-либо из 13 гаплотипов *NCF2* с предрасположенностью к СД2 выявлено не было ($P > 0.05$). Тем не менее анализ эффектов изучаемых SNPs на биохимические показатели плазмы крови пациентов с СД2 установил, что носители гаплотипа H5 rs796860A-rs789180T-rs17849502G-rs2274064C-rs10911363G-rs147415774C-rs2274065A-rs3754515C имели на 4.81% более высокое содержание гликированного гемоглобина (95% CI = 2.63–6.98, $P < 0.0001$) по сравнению с носителями референсного гаплотипа H1 rs796860A-rs789180A-rs17849502G-rs2274064T-rs10911363G-rs147415774C-rs2274065A-rs3754515C (табл. 5).

Принимая во внимание, что ожирение является ведущим фактором риска СД2, нами далее был проведен стратифицированный по индексу массы тела (ИМТ) анализ частот генотипов *NCF2*, результаты которого приведены в табл. 6. Обнаружено, что генотип rs17849502-G/T значимо чаще встречался только у пациентов с избыточной массой тела и ожирением (OR = 1.34, 95% CI = 1.01–1.77, $P = 0.012$), тогда как у лиц с нормальной массой тела рискованный эффект носительства rs17849502-G/T не наблюдался ($P > 0.05$).

Нами были выявлены ассоциации генотипов rs789180-A/T (OR = 1.46, 95% CI = 1.11–1.92, $P =$

= 0.015) и rs10911363-G/T (OR = 0.77; 95% CI = 0.61–0.97, $P = 0.046$) с сердечно-сосудистой автономной нейропатией при СД2, не зависящие от пола, возраста и ИМТ пациентов (табл. 7).

ОБСУЖДЕНИЕ

Цитозольный фактор нейтрофилов 2 (*NCF2*, p67^{phox}) представляет собой регуляторный белок из 526 аминокислот с молекулярной массой 67 кДа, формирующий вместе с *NCF1*, *NCF4* и малой ГТФ-азой *RAC1/RAC2* цитозольный комплекс НАДФН-оксидазы. Именно *NCF2* отвечает за трансфер электронов с НАДФН на флавиновый центр цитохрома *b* и необходим для запуска каталитической активности последнего [15, 16]. Результатом катализа является превращение молекулярного кислорода в супероксид-анион, который в свою очередь является родоначальником перекиси водорода, гидроксильного радикала, пероксинитрита и гипохлорит-аниона. В фагоцитах перечисленные АФК оказывают бактерицидный эффект, а в клетках нефагоцитарного ряда служат важными сигнальными молекулами, регулируемыми процессы роста, деления, апоптоза [17], организации цитоскелета, внутриклеточного транспорта, в том числе гранул инсулина в бета-клетках поджелудочной железы [18–20].

Мутации в гене *NCF2* связаны с развитием хронической гранулематозной болезни [21, 22] – первичного иммунодефицита, характеризующегося неспособностью фагоцитов генерировать суперок-

Таблица 3. Анализ ассоциации аллелей и генотипов полиморфных вариантов гена *NCF2* с риском развития СД2

SNP гена <i>NCF2</i>	Генотип, аллель	n (%)		<i>adjP</i> ¹	<i>adjOR</i> (95% CI) ²
		здоровые (n=1627)	больные (n=1579)		
rs796860 A>C	A/A	1266 (77.8)	1245 (78.8)	0.42	1.00
	C/A	340 (20.9)	310 (19.6)		0.90 (0.76–1.08)
	C/C	21 (1.3)	24 (1.5)		1.21 (0.66–2.22)
	C	0.117	0.113	0.61	0.46 (0.82–1.12)
rs789180 A>T	A/A	1256 (77.2)	1251 (79.2)	0.42	1.00
	A/T	347 (21.3)	308 (19.5)		0.89 (0.74–1.06)
	T/T	24 (1.5)	20 (1.3)		0.99 (0.53–1.87)
	T	0.121	0.110	0.16	0.90 (0.77–1.04)
rs17849502 G>T	G/G	1500 (92.2)	1424 (90.2)	0.043	1.00
	G/T	121 (7.4)	152 (9.6)		1.42 (1.08–1.87)
	T/T	6 (0.4)	3 (0.2)		0.72 (0.17–2.95)
	T	0.041	0.050	0.078	1.24 (0.98–1.56)
rs2274064 T>C	T/T	449 (27.6)	451 (28.6)	0.23	1.00
	C/T	798 (49)	794 (50.3)		1.01 (0.85–1.19)
	C/C	380 (23.4)	334 (21.1)		0.86 (0.71–1.06)
	C	0.479	0.463	0.20	0.94 (0.85–1.04)
rs10911363 G>T	G/G	810 (49.8)	781 (49.5)	0.32	1.00
	G/T	654 (40.2)	661 (41.9)		1.03 (0.88–1.19)
	T/T	163 (10)	137 (8.7)		0.84 (0.65–1.09)
	T	0.301	0.296	0.66	0.98 (0.88–1.09)
rs147415774 C>T	C/C	1621 (99.6)	1575 (99.8)	0.57	1.00
	C/T	6 (0.4)	4 (0.2)		0.69 (0.19–2.50)
	T/T	0.0	0.0		–
	T	0.002	0.001	0.56	0.69 (0.19–2.44)
rs2274065 A>C	A/A	1483 (91.2)	1440 (91.2)	0.64	1.00
	C/A	142 (8.7)	135 (8.6)		1.01 (0.78–1.30)
	C/C	2 (0.1)	4 (0.2)		2.25 (0.40–12.56)
	C	0.045	0.045	0.94	1.01 (0.80–1.28)
rs3754515 C>A	C/C	652 (40.1)	597 (37.8)	0.44	1.00
	C/A	741 (45.5)	759 (48.1)		1.11 (0.95–1.29)
	A/A	234 (14.4)	223 (14.1)		1.04 (0.84–1.30)
	A	0.372	0.382	0.41	1.04 (0.94–1.15)

¹ Уровень значимости ассоциации с риском развития СД2 с коррекцией по полу, возрасту и ИМТ.² Отношения шансов и 95%-ные доверительные интервалы ассоциаций SNPs с риском развития СД2 с коррекцией по полу, возрасту и ИМТ.

Таблица 4. Распределение и анализ ассоциаций гаплотипов *NCF2* с риском развития СД2

<i>H</i>	rs796860	rs789180	rs17849502	rs2274064	rs10911363	rs147415774	rs2274065	rs3754515	Контроль	Больные СД2	OR (95% CI) ¹	<i>P</i>	OR (95% CI) ²	<i>P</i>
<i>H1</i>	A	A	G	T	G	C	A	Δ	0.2253	0.2377	1.00	—	1.00	—
<i>H2</i>	A	A	G	С	Т	С	A	С	0.2209	0.212	0.91 (0.79–1.06)	0.23	0.90 (0.77–1.04)	0.16
<i>H3</i>	A	A	G	T	G	C	A	С	0.1613	0.1691	0.99 (0.83–1.18)	0.91	1.02 (0.85–1.21)	0.86
<i>H4</i>	С	A	G	T	G	C	A	С	0.0985	0.0942	0.92 (0.75–1.11)	0.37	0.92 (0.75–1.12)	0.42
<i>H5</i>	A	Т	G	С	G	C	A	С	0.078	0.0695	0.85 (0.68–1.05)	0.14	0.86 (0.69–1.08)	0.19
<i>H6</i>	A	A	G	С	G	C	A	Δ	0.0404	0.0411	0.97 (0.72–1.30)	0.84	0.99 (0.73–1.34)	0.94
<i>H7</i>	A	A	Т	С	Т	С	A	С	0.0285	0.0352	1.20 (0.87–1.66)	0.27	1.28 (0.92–1.78)	0.14
<i>H8</i>	A	Т	G	С	G	C	С	Δ	0.0263	0.0242	0.87 (0.62–1.22)	0.43	0.88 (0.63–1.25)	0.48
<i>H9</i>	A	A	G	С	G	C	A	С	0.0265	0.0228	0.83 (0.57–1.21)	0.33	0.88 (0.60–1.28)	0.50
<i>H10</i>	A	A	G	С	Т	С	A	Δ	0.0187	0.0174	0.88 (0.54–1.43)	0.60	0.96 (0.58–1.57)	0.86
<i>H11</i>	С	A	G	T	G	C	A	Δ	0.0177	0.013	0.77 (0.46–1.30)	0.34	0.73 (0.43–1.25)	0.25
<i>H12</i>	A	Т	G	С	G	C	A	Δ	0.0098	0.0137	1.29 (0.69–2.43)	0.43	1.37 (0.72–2.61)	0.34
<i>H13</i>	A	A	Т	С	Т	С	A	Δ	0.0119	0.0114	0.91 (0.51–1.60)	0.73	0.82 (0.46–1.46)	0.49
Редкие	*	*	*	*	*	*	*	*	0.0091	0.0101	0.98 (0.72–1.34)	0.92	1.03 (0.75–1.42)	0.84
Общий <i>P</i>												0.83	0.67	

Примечание. Отношения шансов и 95%-ные доверительные интервалы: ¹ без поправок на ковариаты, ² с поправкой на пол, возраст и ИМТ; *H* – гаплотип. Подчеркиванием обозначены минорные аллели.

Таблица 5. Ассоциации гаплотипов гена *NCF2* с уровнем гликированного гемоглобина у больных СД2

<i>H</i>	rs796860	rs789180	rs17849502	rs2274064	rs10911363	rs147415774	rs2274065	rs3754515	Частота гаплотипа	Diff (95% CI) ¹	<i>P</i>
<i>H1</i>	A	A	G	T	G	C	A	Δ	0.2366	0.00	—
<i>H2</i>	A	A	G	С	Т	С	A	С	0.2145	0.1 (–1.35–1.56)	0.89
<i>H3</i>	A	A	G	T	G	C	A	С	0.1699	0.22 (–1.37–1.8)	0.79
<i>H4</i>	С	A	G	T	G	C	A	С	0.0936	–0.04 (–1.91–1.82)	0.96
<i>H5</i>	A	Т	G	С	G	C	A	С	0.0704	4.81 (2.63–6.98)	<0.0001
<i>H6</i>	A	A	G	С	G	C	A	Δ	0.0383	0.03 (–2.73–2.79)	0.99
<i>H7</i>	A	A	Т	С	Т	С	A	С	0.0345	–0.41 (–3.29–2.46)	0.78
<i>H8</i>	A	A	G	С	G	C	A	С	0.0249	–0.17 (–3.45–3.1)	0.92
<i>H9</i>	A	Т	G	С	G	C	С	Δ	0.024	0.14 (–3.1–3.38)	0.93
<i>H10</i>	A	A	G	С	Т	С	A	Δ	0.0173	0.11 (–3.82–4.05)	0.96
<i>H11</i>	A	Т	G	С	G	C	A	Δ	0.0124	–0.55 (–5.12–4.02)	0.81
<i>H12</i>	С	A	G	T	G	C	A	Δ	0.0122	0.1 (–4.38–4.58)	0.97
<i>H13</i>	A	A	Т	С	Т	С	A	Δ	0.0109	0.35 (–4.51–5.21)	0.89
Редкие	*	*	*	*	*	*	*	*	0.0406	–0.19 (–3.08–2.71)	0.90

¹ Значение разности уровня HbA1c (%) при данном гаплотипе по сравнению с референсным гаплотипом *H1*; *H* – гаплотип. Подчеркиванием обозначены минорные аллели.

Таблица 6. Стратифицированный по ИМТ анализ ассоциаций генотипов полиморфных вариантов гена *NCF2* с риском развития СД2

SNP гена <i>NCF2</i>	Генотип	ИМТ < 25 кг/м ²				ИМТ ≥ 25 кг/м ²				P
		Контроль, n (%)	СД2, n (%)	OR (95% CI)	P	Контроль, n (%)	СД2, n (%)	OR (95% CI)	P	
rs796860 A>C	A/A	244 (79.2)	153 (75.7)	1.00	0.14	999 (77.4)	1087 (79.3)	1.00	0.24	
	C/A	60 (19.5)	49 (24.3)	1.21 (0.78–1.88)		274 (21.2)	259 (18.9)	0.87 (0.71–1.05)		
	C/C	4 (1.3)	0 (0)	0.00 (0.00–NA)		17 (1.3)	24 (1.8)	1.27 (0.67–2.40)		
rs789180 A>T	A/A	220 (76.7)	163 (80.3)	1.00	0.56	995 (77.3)	1071 (79)	1.00	0.45	
	A/T	61 (21.2)	37 (18.2)	0.81 (0.51–1.29)		275 (21.4)	267 (19.7)	0.88 (0.73–1.07)		
	T/T	6 (2.1)	3 (1.5)	0.63 (0.15–2.64)		17 (1.3)	17 (1.2)	1.00 (0.51–1.99)		
rs17849502 G>T	G/G	286 (92.9)	179 (90.9)	1.00	0.20	1192 (92)	1186 (90.1)	1.00	0.012	
	G/T	22 (7.1)	16 (8.1)	1.14 (0.57–2.29)		97 (7.5)	129 (9.8)	1.34 (1.01–1.77)		
	T/T	0 (0)	2 (1)	NA (0.00–NA)		6 (0.5)	1 (0.1)	0.15 (0.02–1.26)		
rs2274064 T>C	T/T	75 (25.1)	60 (30)	1.00	0.18	364 (28.1)	385 (28.3)	1.00	0.46	
	C/T	154 (51.5)	105 (52.5)	0.89 (0.57–1.37)		627 (48.5)	679 (50)	1.03 (0.86–1.23)		
	C/C	70 (23.4)	35 (17.5)	0.61 (0.35–1.05)		302 (23.4)	295 (21.7)	0.91 (0.73–1.13)		
rs10911363 G>T	G/G	148 (48.4)	106 (52.5)	1.00	0.53	647 (50.1)	671 (49)	1.00	0.19	
	G/T	134 (43.8)	77 (38.1)	0.81 (0.55–1.20)		508 (39.4)	579 (42.3)	1.08 (0.92–1.27)		
	T/T	24 (7.8)	19 (9.4)	1.04 (0.53–2.03)		136 (10.5)	118 (8.6)	0.84 (0.64–1.10)		
rs147415774 C>T	C/C	309 (100)	202 (99.5)	1.00	0.18	1290 (99.5)	1370 (99.8)	1.00	0.27	
	C/T	0 (0)	1 (0.5)	NA (0.00–NA)		6 (0.5)	3 (0.2)	0.46 (0.11–1.88)		
	T/T	0	0	–		0	0	–		
rs2274065 A>C	A/A	264 (89.2)	185 (92)	1.00	0.35	1186 (91.6)	1235 (91.1)	1.00	0.61	
	C/A	32 (10.8)	16 (8)	0.74 (0.39–1.40)		107 (8.3)	117 (8.6)	1.06 (0.81–1.40)		
	C/C	0	0	–		2 (0.2)	4 (0.3)	2.15 (0.39–11.82)		
rs3754515 C>A	C/C	121 (39.9)	80 (39.4)	1.00	0.93	521 (40.1)	514 (37.5)	1.00	0.29	
	C/A	145 (47.9)	96 (47.3)	1.07 (0.72–1.59)		584 (45)	660 (48.2)	1.14 (0.97–1.35)		
	A/A	37 (12.2)	27 (13.3)	1.10 (0.61–1.98)		194 (14.9)	195 (14.2)	1.05 (0.83–1.32)		

Примечание. *p* – уровень значимости ассоциации с риском развития СД2 с коррекцией по полу, возрасту и ИМТ. OR (95% CI) – отношения шансов и 95%-ные доверительные интервалы ассоциаций SNPs с риском развития СД2 с коррекцией по полу, возрасту и ИМТ.

Таблица 7. Ассоциации полиморфных вариантов изучаемых гена *NCF2* с сердечно-сосудистой автономной нейропатией (КАН) у больных СД2

SNP гена <i>NCF2</i>	Генотип	Больные СД2 без КАН, <i>n</i> (%)	Больные СД2 с КАН, <i>n</i> (%)	OR (95% CI)	<i>P</i>
rs796860 A>C	A/A	708 (80.7)	412 (77)	1.00	0.33
	A/C	158 (18)	110 (20.6)	1.14 (0.86–1.52)	
	C/C	11 (1.2)	13 (2.4)	1.68 (0.73–3.88)	
rs789180 A>T	A/A	704 (81.2)	402 (75.7)	1.00	0.015
	A/T	149 (17.2)	125 (23.5)	1.46 (1.11–1.92)	
	T/T	14 (1.6)	4 (0.8)	0.57 (0.18–1.80)	
rs17849502 G>T	G/G	763 (90)	461 (90.8)	1.00	0.86
	G/T	84 (9.9)	46 (9.1)	0.94 (0.64–1.39)	
	T/T	1 (0.1)	1 (0.2)	1.93 (0.12–31.72)	
rs2274064 T>C	T/T	239 (27.5)	161 (30.3)	1.00	0.46
	T/C	445 (51.2)	251 (47.3)	0.85 (0.66–1.11)	
	C/C	185 (21.3)	119 (22.4)	0.96 (0.70–1.31)	
rs10911363 G>T	G/G	407 (46.6)	285 (53.3)	1.00	0.046
	G/T	379 (43.4)	208 (38.9)	0.77 (0.61–0.97)	
	T/T	88 (10.1)	42 (7.8)	0.71 (0.47–1.07)	
rs147415774 C>T	C/C	877 (99.8)	534 (99.6)	1.00	0.92
	C/T	2 (0.2)	2 (0.4)	1.11 (0.15–8.22)	
	T/T	0	0	–	
rs2274065 A>C	A/A	802 (92.1)	470 (89.5)	1.00	0.27
	A/C	67 (7.7)	53 (10.1)	1.36 (0.92–2.01)	
	C/C	2 (0.2)	2 (0.4)	1.73 (0.24–12.53)	
rs3754515 C>A	C/C	343 (39.1)	197 (36.9)	1.00	0.40
	C/A	419 (47.8)	255 (47.8)	1.05 (0.83–1.34)	
	A/A	115 (13.1)	82 (15.4)	1.27 (0.90–1.78)	

Примечание. OR (95% CI) – отношения шансов и 95%-ные доверительные интервалы с поправкой на пол, возраст и ИМТ. *P* – уровень значимости ассоциации с поправками на пол, возраст и ИМТ.

сид. Полиморфный вариант rs17849502 по данным полногеномных исследований ассоциирован с развитием целиакии [23], ревматоидного артрита [24, 25], вариант rs17849501 – с развитием системной красной волчанки [26], SNP rs35012521 – с развитием эпилептической энцефалопатии [база данных Clinvar, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/RCV001258235/>]. Данные о связи SNPs *NCF2* с предрасположенностью к СД2 и его осложнениям в литературе отсутствуют. Выполненное нами исследование впервые выявило взаимосвязь полиморфизма rs17849502 в интроне гена *NCF2* с повышенным риском развития СД2 у больных с избыточной массой тела и ожирением, тем самым демонстрируя потенциальную вовлеченность гена цитозольного фактора нейтрофилов 2 в пато-

генез диабета. Нам также удалось установить влияние гаплотипа rs796860A-rs789180T-rs17849502G-rs2274064C-rs10911363G-rs147415774C-rs2274065A-rs3754515C на уровень гликированного гемоглобина у больных СД2: носительство данного гаплотипа *NCF2* было сопряжено со значимо более высоким содержанием HbA_{1c}.

Согласно экспериментальным данным GTEX портала (<https://gtexportal.org/>), присутствие минорных аллелей rs17849502-T ($P = 2.1 \times 10^{-12}$) и rs789180-T ($P = 3.2 \times 10^{-10}$) повышает аффинность факторов сплайсинга к синтезированной пре-мРНК и увеличивает число сплайсинговых изоформ *NCF2* в крови. Кроме того, аллель rs789180-T повышает экспрессию в крови гена *SMG7-AS1* ($P = 2.3 \times 10^{-5}$), ассоциированного с пороком раз-

вития межпредсердной перегородки (<https://malacards.org/>). Более эффективный процессинг мРНК NCF2 может способствовать повышению содержания этого белка и активации НАДФН-оксидазы. Гиперактивность NCF2 и NOX имеет особое значение для островков поджелудочной железы, в которой смещение редокс-баланса в прооксидантную сторону приводит к нарушению глюкозостимулированной секреции инсулина, доказательством чего является экспериментальная работа Morgan и коллег, показавших, что применение селективного ингибитора НАДФН-оксидазы подавляет секрецию инсулина бета-клетками [27]. Регуляторное влияние NOX на индуцированную пальмитатом секрецию инсулина продемонстрировано и на островках Лангерганса крыс [20]. Увеличение активности НАДФН-оксидазы и генерации АФК также описано в исследовании на крысах с сочетанием ожирения и диабета [28]. Наконец, в недавней работе Vaig и соавт. [29] отмечен рост постпрандиальной экспрессии НАДФН-оксидазы в нейтрофилах, моноцитах, миоцитах и адипоцитах здоровых индивидов, имеющих больших СД2 родственников первой степени родства по сравнению с лицами с неотягоженным семейным анамнезом. Генетические факторы, взаимодействуя со средой, детерминируют и развитие осложнений СД2, в частности КАН [30]. На сегодняшний день проведен ряд работ по транскриптомному анализу больных с диабетической нейропатией, в которых установлены группы генов, связанных с ее развитием и вовлеченных в становление окислительного стресса, воспаления и дисфункции митохондрий [31–36]. Однако участие гена NCF2 в формировании предрасположенности к КАН показано только в нашем исследовании: носительство генотипов rs789180-А/Т и rs10911363-G/Т значимо ассоциировано с развитием этого осложнения СД2.

Таким образом, в проведенном исследовании впервые выявлены ассоциации rs17849502 гена NCF2 с развитием СД2, а также ассоциации rs789180 и rs10911363 с кардиоваскулярной автономной нейропатией. Полученные данные свидетельствуют о значимом вкладе полиморфизма гена NCF2 в патогенез СД2 и создают научный задел для дальнейших исследований по изучению генетико-биохимических нарушений системы редокс-гомеостаза при сахарном диабете 2-го типа.

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

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Saeedi P., Petersohn I., Salpea P. et al.* Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas // *Diabetes Res. and Clin. Practice.* 2019. V. 157. P. 107843. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2019.107843>
2. *Ziegler D., Voss A., Rathmann W. et al.* Increased prevalence of cardiac autonomic dysfunction at different degrees of glucose intolerance in the general population: the KORA S4 // *Diabetologia.* 2015. V. 58. № 5. P. 1118–1128. <https://doi.org/10.1007/s00125-015-3534-7>
3. *Мошхоева Л.С., Баринов А.Н.* Оптимизация метода диагностики кардиальной автономной нейропатии при сахарном диабете 2-го типа // *Медицинский совет.* 2021. № 10. С. 178–183. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-10-178-183>
4. *Urner S., Ho F., Jha J.C. et al.* NADPH oxidase inhibition: preclinical and clinical studies in diabetic complications // *Antioxidants and Redox Signaling.* 2020. V. 33. № 6. P. 415–434. <https://doi.org/10.1089/ars.2020.8047>
5. *Onyango A.N.* Cellular stresses and stress responses in the pathogenesis of insulin resistance // *Oxid. Med. Cell Longev.* 2018. P. 4321714. <https://doi.org/10.1155/2018/4321714>
6. *Sies H., Jones D.P.* Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2020. V. 21. P. 363–383. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0230-3>
7. *Taylor J.P., Hubert M.T.* The role of NADPH oxidases in infectious and inflammatory diseases // *Redox Biol.* 2021. P. 102159. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.102159>
8. *Schreiber R., Ferreira-Sae M.C., Tucunduva A.C. et al.* CYBA C242T polymorphism is associated with obesity and diabetes mellitus in Brazilian hypertensive patients // *Diabetic Med.* 2012. V. 29. № 7. P. e55–e61. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2012.03594.x>
9. *Osmenda G., Matusik P.T., Sliwa T. et al.* Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase p22phox subunit polymorphisms, systemic oxidative stress, endothelial dysfunction, and atherosclerosis in type 2 diabetes mellitus // *Polish Archiv. Intern. Med.* 2021. V. 131. № 5. P. 447–454. <https://doi.org/10.20452/pamw.15937>
10. *Yuan H., Zhang X., Huang X. et al.* NADPH oxidase 2-derived reactive oxygen species mediate FFAs-induced dysfunction and apoptosis of beta-cells via JNK, p38 MAPK and p53 pathways // *PLoS One.* 2010. V. 5.

- P. e15726.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015726>
11. *Ma Y., Li W., Yin Y. et al.* AST IV inhibits H(2)O(2)-induced human umbilical vein endothelial cell apoptosis by suppressing Nox4 expression through the TGF-beta1/Smad2 pathway // *Int. J. Mol. Med.* 2015. V. 35. P. 1667–1674.
<https://doi.org/10.3892/ijmm.2015.2188>
 12. *Дедов И.И., Шестакова М.В., Майоров А.Ю. и др.* Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом. Вып. 9 / Под ред. Дедова И.И., Шестаковой М.В., Майорова А.Ю. // *Сахарный диабет.* Т. 22. № 1S1. С. 1–144.
<https://doi.org/10.14341/DM221S1>
 13. *Азарова Ю.Э., Клёсова Е.Ю., Сакали С.Ю. и др.* Вклад полиморфизма rs11927381 гена IGF2BP2 в патогенез сахарного диабета 2 типа // *Науч. результаты биомед. исследований.* 2020. Т. 6. № 1. С. 9–19.
<https://doi.org/10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-2>
 14. *Азарова Ю.Э., Клёсова Е.Ю., Самгина Т.А. и др.* Роль полиморфных вариантов гена СУВА в патогенезе сахарного диабета 2 типа // *Мед. генетика.* 2019. Т. 18. № 8. С. 37–48.
<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2019.08.37-48>
 15. *Vignais P.V.* The superoxide-generating NADPH oxidase: structural aspects and activation mechanism // *CMLS.* 2002. V. 59. № 9. P. 1428–1459.
<https://doi.org/10.1007/s00018-002-8520-9>
 16. *Sahoo S., Meijles D.N., Pagano P.J.* NADPH oxidases: Key modulators in aging and age-related cardiovascular diseases? // *Clin. Sci.* 2016. V. 130. № 5. P. 317–335.
<https://doi.org/10.1042/CS20150087>
 17. *Manea A.* NADPH oxidase-derived reactive oxygen species: Involvement in vascular physiology and pathology // *Cell and Tissue Res.* 2010. V. 342. № 3. P. 325–339.
<https://doi.org/10.1007/s00441-010-1060-y>
 18. *Oliveira H.R., Verlengia R., Carvalho C.R. et al.* Pancreatic beta cells express phagocyte-like NADPH oxidase // *Diabetes.* 2003. V. 52. № 6. P. 1457–1463.
<https://doi.org/10.2337/diabetes.52.6.1457>
 19. *Uchizono Y., Takeya R., Iwase M. et al.* Expression of isoforms of NADPH oxidase components in rat pancreatic islets // *Life Sci.* 2006. V. 80. № 2. P. 133–139.
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2006.08.031>
 20. *Graciano M.F., Santos L.R., Curi R. et al.* NAD(P)H oxidase participates in the palmitate-induced superoxide production and insulin secretion by rat pancreatic islets // *J Cell Physiol.* 2011. V. 226. № 4. P. 1110–1117.
<https://doi.org/10.1002/jcp.22432>
 21. *de Mendez I., Garrett M.C., Adams A.G. et al.* Role of p67-phox SH3 domains in assembly of the NADPH oxidase system // *J. Biol. Chemistry.* 1994. V. 269. № 23. P. 16326–16332.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)34011-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)34011-5)
 22. *Leusen J.H., Fluiter K., Hilarius P.M. et al.* Interactions between the cytosolic components p47phox and p67phox of the human neutrophil NADPH oxidase that are not required for activation in the cell-free system // *J. Biol. Chemistry.* 1995. V. 270. № 19. P. 11216–11221.
<https://doi.org/10.1074/jbc.270.19.11216>
 23. *Ricaño-Ponce I., Gutierrez-Achury J., Costa A.F. et al.* Immunochip meta-analysis in European and Argentinian populations identifies two novel genetic loci associated with celiac disease // *Eur. J. Human Genet.* 2020. V. 28. № 3. P. 313–323.
<https://doi.org/10.1038/s41431-019-0520-4>
 24. *Gutierrez-Achury J., Zorro M.M., Ricaño-Ponce I. et al.* Functional implications of disease-specific variants in loci jointly associated with coeliac disease and rheumatoid arthritis // *Human Mol. Genet.* 2016. V. 25. № 1. P. 180–190.
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddv455>
 25. *Acosta-Herrera M., Kerick M., González-Serna D. et al.* Genome-wide meta-analysis reveals shared new loci in systemic seropositive rheumatic diseases // *Annals Rheumatic Diseases.* 2019. V. 78. № 3. P. 311–319.
<https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2018-214127>
 26. *Morris D.L., Sheng Y., Zhang Y. et al.* Genome-wide association meta-analysis in Chinese and European individuals identifies ten new loci associated with systemic lupus erythematosus // *Nat. Genet.* 2016. V. 48. № 8. P. 940–946.
<https://doi.org/10.1038/ng.3603>
 27. *Morgan D., Rebelato E., Abdulkader F. et al.* Association of NAD(P)H oxidase with glucose-induced insulin secretion by pancreatic beta-cells // *Endocrinology.* 2009. V. 150. № 5. P. 2197–2201.
<https://doi.org/10.1210/en.2008-1149>
 28. *Syed I., Kyathanahalli C.N., Kowluru A.* Phagocyte-like NADPH oxidase generates ROS in INS 832/13 cells and rat islets: role of protein prenylation // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2011. V. 300. № 3. P. R756–R762.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00786.2010>
 29. *Baig S., Shabeer M., Rizvi E.P. et al.* Heredity of type 2 diabetes confers increased susceptibility to oxidative stress and inflammation // *BMJ Open Diabetes Res. and Care.* 2020. V. 8. № 1. P. e000945.
<https://doi.org/10.1136/bmjdr-2019-000945>
 30. *Papanas N., Ziegler D.* Risk factors and comorbidities in diabetic neuropathy: an update // *Rev. Diabet. Stud.* 2015. V. 12. № 1–2. P. 48–62.
<https://doi.org/10.1900/RDS.2015.12.48>
 31. *Pande M., Hur J., Hong Y. et al.* Transcriptional profiling of diabetic neuropathy in the BKS db/db mouse: A model of type 2 diabetes // *Diabetes.* 2011. V. 60. № 7. P. 1981–1989.
<https://doi.org/10.2337/db10-1541>
 32. *Ma J., Pan P., Anyika M. et al.* Modulating molecular chaperones improves mitochondrial bioenergetics and decreases the inflammatory transcriptome in diabetic sensory neurons // *ACS Chem. Neurosci.* 2015. V. 6. № 9. P. 1637–1648.
<https://doi.org/10.1021/acschemneuro.5b00165>

33. Hur J., Dauch J.R., Hinder L.M. et al. The metabolic syndrome and microvascular complications in a murine model of type 2 diabetes // *Diabetes*. 2015. V. 64. № 9. P. 3294–3304.
https://doi.org/10.2337/db15-0133
34. Sas K.M., Kayampilly P., Byun J. et al. Tissue-specific metabolic reprogramming drives nutrient flux in diabetic complications // *JCI Insight*. 2016. V. 1. № 15. P. e86976.
https://doi.org/10.1172/jci.insight.86976
35. Hinder L.M., Park M., Rumora A.E. et al. Comparative RNA-Seq transcriptome analyses reveal distinct metabolic pathways in diabetic nerve and kidney disease // *J. Cell Mol. Med.* 2017. V. 21. № 9. P. 2140–2152.
https://doi.org/10.1111/jcmm.13136
36. Guo K., Eid S.A., Elzinga S.E. et al. Genome-wide profiling of DNA methylation and gene expression identifies candidate genes for human diabetic neuropathy // *Clin. Epigenet.* 2020. V. 12. № 1. P. 1–16.
https://doi.org/10.1186/s13148-020-00913-6

Polymorphic Variants of the Neutrophil Cytosolic Factor 2 Gene: Associations with a Predisposition to Type 2 Diabetes Mellitus and Cardiovascular Autonomic neuropathy

I. E. Azarova^a, *, E. Yu. Klyosova^a, I. I. Kolomoets^a, and A. V. Polonikov^a

^a Kursk State Medical University, Kursk, 305041 Russia

*e-mail: azzzzar@yandex.ru

The study included 3206 unrelated individuals of Slavic origin (1579 patients with T2D, including 535 patients with cardiovascular autonomic neuropathy, and 1627 healthy volunteers). SNPs genotyping was performed on a genomic time-of-flight mass spectrometer MassARRAY Analyzer 4. Statistical calculations were performed using the SNPStats program. The association of the *NCF2* genotype rs17849502-G/T (OR = 1.42, 95% CI = 1.08–1.87, $P = 0.043$) with an increased risk of developing T2D was established. The analysis of *NCF2* genotype frequencies stratified by body mass index (BMI) revealed that the rs17849502-G/T genotype frequency was significantly higher only in overweight and obese patients (OR = 1.34, 95% CI = 1.01–1.77, $P = 0.012$). In addition, genotypes rs789180-A/T (OR = 1.46; 95% CI = 1.11–1.92, $P = 0.015$) and rs10911363-G/T (OR = 0.77, 95% CI = 0.61–0.97, $P = 0.046$) were associated with autonomous cardiovascular neuropathy in T2D, regardless of gender, age and BMI of patients. Analysis of the effects of *NCF2* polymorphisms on biochemical parameters of blood plasma showed that carriers of the haplotype *H5* rs796860A-rs789180T-rs17849502G-rs2274064C-rs10911363G-rs147415774C-rs2274065A-rs3754515C had a 4.81% higher content of glycated hemoglobin (95% CI = 2.63–6.98, $P < 0.0001$) compared with carriers of the reference haplotype *H1* rs796860A-rs789180A-rs17849502G-rs2274064T-rs10911363G-rs147415774C-rs2274065A-rs3754515C. Thus, we have identified for the first time associations of rs17849502 of the *NCF2* gene with the development of T2D, as well as associations of rs789180 and rs10911363 with cardiovascular autonomic neuropathy. The data obtained indicate a significant contribution of the *NCF2* gene polymorphism to the pathogenesis of T2D and provide a scientific basis for further research on the study of genetic and biochemical disorders of redox homeostasis in type 2 diabetes mellitus.

Keywords: type 2 diabetes mellitus, diabetic distal neuropathy, cardiovascular autonomic neuropathy, neutrophil cytosolic factor 2, NADPH oxidase, single nucleotide polymorphism.