

## Συσχέτιση γενετικών πολυμορφισμών των γονιδίων *ALOX5* και *ALOX5AP* σε ηλικιωμένους με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2\*

Ξ. Τσεκμεκίδου<sup>1</sup>  
Φ. Τσέτσος<sup>2</sup>  
Μ. Γεωργίτση<sup>2,3</sup>  
Α. Ρουμελιώτης<sup>4</sup>  
Ν. Παπάνας<sup>5</sup>  
Π. Πάσχου<sup>2</sup>  
Ι. Γιώβος<sup>1</sup>  
Κ. Κώτσα<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Τμήμα Ενδοκρινολογίας και Μεταβολισμού, Διαβητολογικό Κέντρο, Α' Παθολογική Κλινική ΠΓΝ ΑΧΕΠΑ, Θεσσαλονίκη  
<sup>2</sup> Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη  
<sup>3</sup> Εργαστήριο Βιολογίας και Γενετικής, Τμήμα Ιατρικής, ΑΠΘ  
<sup>4</sup> Τμήμα Νεφρολογίας, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη  
<sup>5</sup> Διαβητολογικό Κέντρο, Β' Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη

### Περίληψη

**Εισαγωγή:** Η σημασία της φλεγμονής στην παθογένεια του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 (ΣΔΤ2) έχει απασχολήσει αρκετά την επιστημονική κοινότητα. Το αραχιδονικό οξύ και οι μεταβολίτες του έχουν μελετηθεί εκτενώς στο πλαίσιο της φλεγμονής σε διάφορα μεταβολικά μονοπάτια. Οι λιποξυγενάσες του αραχιδονικού οξέος είναι ένζυμα που το καταλύουν προς σχηματισμό μεταβολιτών με αντιφλεγμονώδη δράση. Μεταλλάξεις των γονιδίων των λιποξυγενασών έχουν συσχετιστεί με την εμφάνιση επιπλοκών του ΣΔΤ2. Η παρούσα μελέτη διερευνά τη συσχέτιση γενετικών πολυμορφισμών των γονιδίων *ALOX5* και *ALOX5AP* με την παρουσία ΣΔΤ2.

**Υλικό-Μέθοδοι:** Συνολικά συμμετείχαν στη μελέτη 1.285 ηλικιωμένοι, 716 με ΣΔΤ2. Η απουσία νόσου στην ομάδα ελέγχου τεκμηριώθηκε με καταγραφή τιμών HbA1c <6,5% και γλυκόζης νηστείας <126 mg/dl. Έγινε καταγραφή των σωματομετρικών χαρακτηριστικών και προσδιορισμός βιοχημικών παραμέτρων. Απομονώθηκε γενετικό υλικό από ολικό αίμα, ενώ η γονοτύπηση έγινε σε αναλυτή της Illumina Infinium PsychArray. Έγινε επιλογή πολυμορφισμών των γονιδίων *ALOX5* και *ALOX5AP* και ακολούθησε στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων με τα στατιστικά πακέτα SPSS και PLINK, ενώ χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος ανάλυσης με μετάθεση, μέθοδος αναφοράς σε γενετικές μελέτες (permutation analysis test). Οι τιμές  $p < 0,05$  θεωρήθηκαν σημαντικές.

**Αποτελέσματα:** Στον πληθυσμό της μελέτης υπάρχει σαφής αριθμητική υπεροχή των θηλέων με συνολικά 52,2% της ομάδας των ασθενών και 61,8% της ομάδας ελέγχου να είναι γυναίκες. Μέση χρονική διάρκεια ΣΔΤ2 ήταν τα  $14,39 \pm 9,29$  έτη. Συνολικά μελετήθηκαν 21 γενετικοί τόποι σε 2 διαφορετικά γονίδια. Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων της γονοτύπησης ανέδειξε συσχέτιση των πολυμορφισμών rs9669952 (OR=0,738,  $p=0,013$ ) και rs1132340 (OR=0,652,  $p=0,008$ ) του γονιδίου *ALOX5AP* καθώς τον πολυμορφισμό rs11239524 του γονιδίου *ALOX5* (OR=0,808,  $p=0,038$ ) με τον ΣΔΤ2.

**Συζήτηση:** Μέσα από τα αποτελέσματα της μελέτης φαίνεται να αναδεικνύεται ένας πιθανόν προστατευτικός ρόλος των γονιδίων *ALOX5* και *ALOX5AP* στην παθογένεια του ΣΔΤ2, γεφυρώνοντας ενδεχομένως ακόμη περισσότερο τον διαβήτη με τη φλεγμονή. Χρειάζονται, ωστόσο, μελέτες σε μεγαλύτερους πληθυσμούς για την αναπαραγωγή των αποτελεσμάτων αλλά και τη διερεύνηση πιθανών αιτιολογικών μηχανισμών.

\* Η εργασία βραβεύτηκε στο 31ο Πανελλήνιο Ετήσιο Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Μελέτης και Εκπαίδευσης για τον Σακχαρώδη Διαβήτη, 08-12/11/2017, Θεσσαλονίκη.

## Εισαγωγή

Έναν ολόκληρο αιώνα μετά την ανακάλυψη της ινσουλίνης και ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 (ΣΔΤ2) παραμένει ένα τεράστιο πρόβλημα υγείας. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, η επίπτωσή του στους ενήλικες έφτασε το 8,5% το 2016<sup>1</sup>. Αυτή τη στιγμή, έχουν διαγνωστεί παγκοσμίως 415 εκατομμύρια ασθενείς με ΣΔΤ2, αριθμός που αναμένεται να αυξηθεί στα 642 εκατομμύρια μέχρι το 2040 σύμφωνα με τις προβλέψεις του IDF<sup>2</sup>. Είναι αδιαμφισβήτητο ότι αυτή η παγκόσμια επιδημία επιδρά όχι μόνο στη δημόσια υγεία, αλλά και γενικότερα στην κοινωνία και την οικονομία. Παρά την αλματώδη πρόοδο στην αντιμετώπιση του ΣΔΤ2, η παθογένεια της νόσου δεν έχει πλήρως αποσαφηνιστεί. Ο ΣΔΤ2 είναι μια πολυπαραγοντική νόσος που φαίνεται να επηρεάζεται τόσο από γενετικούς όσο και περιβαλλοντικούς παράγοντες, οι οποίοι με τη σειρά τους εμπλέκονται σε ποικίλα μεταβολικά μονοπάτια.

Οι λιποξυγενάσες (ΛΠΞ) αντιπροσωπεύουν μια ομάδα ενζύμων που καταλύουν την αφαίρεση οξυγόνου από πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (ΠΛΟ) προς τον σχηματισμό φλεγμονωδών μεταβολιτών που επηρεάζουν την κυτταρική λειτουργία και επιβίωση<sup>3</sup>. Οι ΛΠΞ ονοματίζονται ανάλογα με τον αριθμό του ατόμου του άνθρακα που χάνει το οξυγόνο, σχηματίζοντας αντίστοιχα την 5-,12-,15-λιποξυγενάση<sup>4</sup>. Το αραχιδονικό οξύ είναι ένα πολυακόρεστο οξύ που μετατρέπεται σε λευκοτριένια από το ένζυμο 5-λιποξυγενάση, μετά από τη δράση της ενεργοποιητικής πρωτεΐνης της 5-λιποξυγενάσης (5AP-ΛΠΞ)<sup>5</sup>.

Οι ανθρώπινες ΛΠΞ ενδεχομένως να διαδραματίζουν κάποιο ρόλο στην παθογένεια καρδιαγγειακών και φλεγμονωδών νοσημάτων καθώς και του ΣΔΤ2. Οι ακριβείς μηχανισμοί δράσης δεν έχουν πλήρως αποσαφηνιστεί. Η 12-ΛΠΞ φαίνεται να εμπλέκεται μέσω της φλεγμονής σε σειρά μεταβολικών διαταραχών που επηρεάζουν τη λειτουργικότητα του β-κυττάρου<sup>6</sup>. Η Ma και οι συνεργάτες της έδειξαν ότι το 12-υδροξυεικοσατετραενοϊκό οξύ (12-HEΤΕ), ένα υποπροϊόν της βιολογικής δράσης της 12-ΛΠΞ, αναστέλλει την έκκριση ινσουλίνης και προάγει τον κυτταρικό θάνατο σε ανθρώπινα νησίδα *in vivo*<sup>7</sup>. Το αντίστοιχο προϊόν της 15-ΛΠΞ, το 15-υδροξυεικοσατετραενοϊκό οξύ, εκφράζεται στα επιθηλιακά κύτταρα ασθενών με διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια, ενώ το μεταβολικό μονοπάτι

της 5-ΛΠΞ φαίνεται να συμμετέχει στην εξέλιξη της νόσου<sup>8,9</sup>. Ακόμη, η έκφραση του *ALOX12* σε ανθρώπινα νησίδα ενδεχομένως να σχετίζεται με την επιβίωση του β-κυττάρου κατά τα πρώτα στάδια εμφάνισης αυτοάνοσου διαβήτη<sup>7,10</sup>. Η υπόθεση ότι η αναστολή της 12-ΛΠΞ μπορεί να αυξήσει την επιβίωση του β-κυττάρου ενισχύεται και από τον Grzesik και τους συνεργάτες του, που έδειξαν ότι η αναβολική ρύθμιση της 12-ΛΠΞ σε συνθήκες φλεγμονής σε διαβητικά παγκρέατα συμβάλλει στην αποδιαφοροποίηση του β-κυττάρου<sup>11</sup>. Αξίζει, επιπλέον, να σημειωθεί ότι προϊόντα της 15-ΛΠΞ έχουν συσχετιστεί με τη συσσώρευση λίπους σε πρόδρομα λιποκύτταρα και πιθανόν να αποτελούν το εφαλτήριο της λιπογένεσης<sup>12</sup>.

Οι μονονουλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNP) των γονιδίων που κωδικοποιούν τις ΛΠΞ (*ALOX*) δεν έχουν μελετηθεί εκτενώς για την πιθανή συσχέτισή τους με νοσήματα όπως ο ΣΔΤ2. Ωστόσο, μεταλλάξεις του *ALOX12* γονιδίου συνδέονται με την παρουσία λευκωματουρίας σε ασθενείς με ΣΔΤ2<sup>13</sup>. Ακόμη, πολυμορφισμοί των γονιδίων *ALOX12*, *ALOX5* και *ALOX5AP* έχουν συσχετιστεί με δείκτες αθηροσκλήρωσης σε οικογένειες με ΣΔΤ2, ενισχύοντας την υπόθεση ότι η αθηροσκλήρωση και ο ΣΔΤ2 συνδέονται μέσω της φλεγμονής<sup>14</sup>. Όλα τα παραπάνω θέτουν την υπόνοια συσχέτισης ΛΠΞ και ΣΔΤ2. Σκοπός, λοιπόν, της μελέτης είναι η διερεύνηση γενετικών πολυμορφισμών των γονιδίων των ΛΠΞ σε σχέση με την παρουσία ΣΔΤ2. Είναι η πρώτη φορά που καταγράφεται μια τέτοιου είδους μελέτη σε ελληνικό πληθυσμό.

## Υλικά και Μέθοδοι

Συνολικά συμμετείχαν στη μελέτη 1.285 άτομα. Ασθενείς με διαγνωσμένο ΣΔΤ2 επιλέχθηκαν από τα τακτικά εξωτερικά ιατρεία των Διαβητολογικών Κέντρων του ΠΓΝΘ ΑΧΕΠΑ και του ΠΓΝ Αλεξανδρούπολης. Από τις ίδιες γεωγραφικά περιοχές στρατολογήθηκε η ομάδα ελέγχου, στην οποία επιβεβαιώθηκε η απουσία διαβήτη τόσο με τη μέτρηση επιπέδων γλυκόζης νηστείας (ΓΝ) όσο και γλυκοζιλιωμένης αιμοσφαιρίνης (HbA1c). Έγινε καταγραφή των δημογραφικών και σωματομετρικών παραμέτρων καθώς και ατομικό και οικογενειακό ιστορικό. Κριτήρια εισαγωγής στην ομάδα ελέγχου ήταν: (α) ηλικία > 65 έτη, (β) επίπεδα HbA1c <6,5%, (γ) ΓΝ <126 mg/dl, (δ) απουσία προηγούμενης διάγνωσης ΣΔΤ2 ή αναφερόμενης υπεργλυ-

καμίας και (ε) απουσία προηγούμενης ή παρούσας λήψης αντιδιαβητικής αγωγής. Η διάγνωση του ΣΔΤ2 βασίστηκε στα διαγνωστικά κριτήρια της Αμερικανικής Διαβητολογικής Εταιρείας του 2010<sup>15,16</sup>. Ασθενείς με πρωτοεμφανιζόμενο ή προκαλούμενο ΣΔΤ2 λόγω ηπατικής ανεπάρκειας ή λήψης στεροειδών ή άλλης φαρμακευτικής αγωγής που προκαλεί υπεργλυκαιμία αποκλείστηκαν από τη μελέτη. Συνολικά, στην ομάδα του διαβήτη συμμετείχαν 716 ασθενείς, ενώ στην ομάδα ελέγχου 569 ήταν τα άτομα που πληρούσαν τα κριτήρια εισαγωγής. Όλοι ήταν κάτοικοι της Κεντρικής Μακεδονίας και Θράκης καθώς και ελληνικής εθνικότητας και καταγωγής.

#### Συλλογή κλινικών πληροφοριών / μετρήσεων.

Για τη συλλογή κλινικών πληροφοριών, όπως το οικογενειακό και ατομικό αναμνηστικό, η ηλικία διάγνωσης ΣΔΤ2, η καταγωγή αλλά και η λήψη φαρμακευτικής αγωγής, χρησιμοποιήθηκαν οι ιατρικοί φάκελοι των ασθενών και η μορφή συνέντευξης για την ομάδα ελέγχου. Η καταγραφή σωματομετρικών παραμέτρων έγινε με ελαφριά ένδυση και χωρίς παπούτσια. Μετρήθηκε το βάρος σώματος και το ύψος με τη χρήση ζυγαριάς ακριβείας και υψομέτρου. Κατόπιν, υπολογίστηκε ο δείκτης μάζας σώματος ως ο λόγος βάρους σώματος σε κιλά διά του ύψους σε μέτρα στο τετράγωνο. Η περίμετρος μέσης μετρήθηκε σε εκατοστά με τη χρήση μίας μεζούρας περίπου στο μέσο της απόστασης από τη 12<sup>η</sup> πλευρά έως τη λαγόνια ακρολοφία. Για την πιστοποίηση της απουσίας ή παρουσίας ΣΔΤ2 μετρήθηκαν τα επίπεδα ΓΝ και HbA1c σε δείγμα φλεβικού αίματος μετά από ολονύκτια νηστεία. Για τον προσδιορισμό της HbA1c χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της γρήρης χρωματογραφίας υψηλής ευκρίνειας. Όλοι οι συμμετέχοντες στη μελέτη παρέιχαν το αντίστοιχο γραπτό έντυπο συγκατάθεσης πριν από οποιαδήποτε διαδικασία της μελέτης. Το πρωτόκολλο της μελέτης εγκρίθηκε από την Επιτροπή Βιοηθικής του ΑΠΘ.

*Επιλογή πολυμορφισμών (SNPs) και Γονοτύπηση.* Σκοπός της μελέτης ήταν η διερεύνηση της πιθανής συσχέτισης των πολυμορφισμών των γονιδίων *ALOX5* και *ALOX5AP* σε Έλληνες ασθενείς με ΣΔΤ2 σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (μελέτη ασθενών-μαρτύρων). Απομονώθηκε γενετικό υλικό από ολικό αίμα και η γονοτύπηση έγινε με τη μέθοδο της αναγνώρισης αλληλουχιών (sequencing) με τη χρήση του Illumina Infinium PsychArray. Μετά

από τον ποιοτικό έλεγχο των αποτελεσμάτων για κάθε SNP και τον ποιοτικό έλεγχο των δειγμάτων για την ύπαρξη ανισορροπίας σύνδεσης αλλά και γενετικής συσχέτισης, επιλέχθηκαν οι πολυμορφισμοί που εντοπίστηκαν στην ευρύτερη περιοχή ( $\pm 20\text{kb}$ ) που εδράζουν τα γονίδια *ALOX5* και *ALOX5AP*. Για τον σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν τα λογισμικά πακέτα PLINK και EIGENSOFT<sup>17</sup>.

*Στατιστική ανάλυση.* Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη χρήση των στατιστικών πακέτων PLINK και SPSS. Για τις διαφορές στα κλινικά χαρακτηριστικά εφαρμόστηκε το Student's t-test με τη χρήση του στατιστικού πακέτου SPSS 21.0. Ο λόγος πιθανοτήτων (ORs) για επικρατές και υπολειπόμενο αλληλίο και η συσχέτιση με τον ΣΔΤ2 έγινε με ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης (logistic regression analysis) μέσω του PLINK χωρίς αλλά και με προσαρμογές για ηλικία, φύλο και ΔΜΣ<sup>18,19</sup>. Τα αποτελέσματα αξιολογήθηκαν περαιτέρω για τη σημαντικότητά τους, μετά από διόρθωση για πολλαπλές μεταβλητές. Αν και η διόρθωση κατά Bonferroni είναι η αρχική προσέγγιση στις περισσότερες μελέτες, δεν συμβαίνει το ίδιο και με τις γενετικές μελέτες. Σε αυτή την περίπτωση, η διόρθωση κατά Bonferroni φαίνεται να είναι αρκετά συντηρητική καθώς δεν λαμβάνει υπόψη το γεγονός ότι τα SNPs μέσα σε ένα γονίδιο συχνά σχετίζονται μεταξύ τους<sup>20</sup>. Για τον λόγο αυτό, χρησιμοποιήσαμε δύο διαφορετικές μεθόδους για την εκτίμηση των αποτελεσμάτων. Πρώτον, τη δοκιμασία με τη μέθοδο της μετάθεσης (permutation test analysis), όπου υπολογιστικά με τη βοήθεια του PLINK «μετατίθενται» οι φαινότυποι του πληθυσμού και υπολογίζονται νέες τιμές p ( $p_{perm}$ )<sup>18,21</sup>. Η δεύτερη μέθοδος στηρίζεται στον υπολογισμό των «αποτελεσματικών» SNP όπως αναφέρεται από τον Gao και τους συνεργάτες του<sup>22</sup>. Αυτή η μέθοδος υπολογίζει τον αριθμό των θεωρητικών SNPs με τη μεγαλύτερη διακύμανση μέσα στον πληθυσμό και εφαρμόζει μια εναλλακτική προσέγγιση στη διόρθωση κατά Bonferroni. Έχει δείχθει ότι και οι δύο αυτές μέθοδοι είναι κατάλληλες για διόρθωση για πολλαπλές μεταβλητές σε μελέτες γονιδίων που γειτνιάζουν<sup>23</sup>. Οι τιμές  $p < 0,05$  θεωρήθηκαν σημαντικές.

#### Αποτελέσματα

Ο πληθυσμός της μελέτης αποτελούνταν από 716 ασθενείς με ΣΔΤ2 και 569 συμμετέχοντες στην ομάδα ελέγχου. Υπήρξε σαφής υπερχογή των θηλέων

**Πίνακας 1.** Κλινικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού. Οι τιμές εκφράζονται με τη μέση τιμή ± τυπική απόκλιση.

	ΣΔΤ2	Ομάδα ελέγχου	p
Ηλικία (έτη)	68,94±9,53	73,46±7,25	-
Βάρος (kg)	84,96±16,84	78,55±14,00	<0,05
ΔΜΣ (kg/m <sup>2</sup> )	31,56±5,43	29,82±5,32	<0,05
Περιμ. μέσης (εκ.)	104,62±15,03	102,02±11,88	0,003
HbA1c (%)	7,29±1,27	5,34±0,56	<0,05
Γλυκόζη νηστείας (mg/dl)	153,16±53,71	100,05±13,50	<0,05
Χοληστερόλη (mg/dl)	181,32±44,62	200,36±44,16	<0,05
LDL (mg/dl)	101,57±38,84	119,74±35,65	<0,05
HDL (mg/dl)	48,23±15,87	58,08±14,81	<0,05
Τριγλυκερίδια (mg/dl)	160,41±109,47	114,51±45,53	<0,05
Διάρκεια ΣΔΤ2 (έτη)	14,39±9,29	-	-
N	716	569	

τόσο στην ομάδα ασθενών όσο και την ομάδα μαρτύρων (52,2% γυναίκες vs 47,8% ανδρών ασθενών, 61,8% γυναίκες vs 38,2% ανδρών μη διαβητικών μαρτύρων). Η μέση χρονική διάρκεια το ΣΔΤ2 ήταν 14,39±9,29 έτη. Τα κλινικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού παρουσιάζονται στον

πίνακα 1. Συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου, παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε βάρος σώματος, ΔΜΣ, περίμετρο μέσης, ΓΝ και λιπιδαιμικό προφίλ (όλα p<0,05) σε σχέση με την ομάδα των ασθενών. Οι ασθενείς με ΣΔΤ2 ήταν παχύτεροι με μέση τιμή ΔΜΣ 31,57±5,43 kg/m<sup>2</sup>, ενώ οι συμμετέχοντες στην ομάδα ελέγχου ήταν υπέρβαροι με μέση τιμή ΔΜΣ 29,82±5,32 kg/m<sup>2</sup>. Επίσης, οι γυναίκες ασθενείς παρουσίασαν καλύτερο γλυκαιμικό έλεγχο με τιμές HbA1c σημαντικά χαμηλότερες σε σχέση με τους άνδρες ασθενείς (7,18%±1,10 vs 7,39%±1,41, p=0,05). Συνολικά εντοπίστηκαν 21 γενετικοί πολυμορφισμοί στα υπό μελέτη γονίδια. Η δοκιμασία της μεθόδου μετάθεσης επέτρεψε συγκρίσεις μεταξύ υπολειπόμενων και επικρατούντων αλληλίων και ανέδειξε ότι ο πολυμορφισμός rs1132340 (p<sub>perm</sub>=0,008) και ο rs9669952 (p<sub>perm</sub>=0,013) στο γονίδιο *ALOX5AP* σχετίζονται με την παρουσία ΣΔΤ2. Ο rs11239524\_T/G του γονιδίου *ALOX5* επίσης συσχετίστηκε με τον ΣΔΤ2 (p<sub>perm</sub>=0,038). Από την ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης προέκυψε ότι η ύπαρξη του G αλληλίου στον rs1132340\_A/G σχετίζεται αρνητικά με τον

**Πίνακας 2.** Στατιστική ανάλυση με τη μέθοδο της μετάθεσης (Permutation analysis test).

Γονίδιο	SNP*	Επικρατές » Υπολειπόμενο αλληλίο	Συχνότητα υπολειπόμενων αλληλίων στον ΣΔΤ2	Συχνότητα υπολειπόμενων αλληλίων στην ομάδα ελέγχου	Συνολική συχνότητα υπολειπόμενου αλληλίου	p <sub>perm</sub> **
<i>ALOX5AP</i>	<b>rs9669952</b>	<b>T &gt;&gt; C</b>	<b>0,112</b>	<b>0,146</b>	<b>0,129</b>	<b>0,013</b>
	rs4617690	G >> A	0,144	0,145	0,144	0,954
	rs78236471	T >> C	0,001	0,000	0,000	1,000
	rs4769055	C >> A	0,305	0,336	0,320	0,099
	rs9315045	T >> C	0,252	0,286	0,269	0,067
	rs3885907	A >> C	0,434	0,408	0,421	0,204
	rs141376946	C >> T	0,000	0,001	0,0004	0,489
	rs3803277	C >> A	0,451	0,460	0,455	0,684
	rs9671124	C >> T	0,486	0,485	0,485	1,000
	rs9508834	A >> G	0,191	0,215	0,203	0,158
	rs9508835	C >> A	0,339	0,309	0,324	0,130
	rs3935644	C >> T	0,278	0,251	0,265	0,130
	rs141412081	A >> G	0,001	0,000	0,0004	1,000
	<b>rs1132340</b>	<b>A &gt;&gt; G</b>	<b>0,058</b>	<b>0,087</b>	<b>0,072</b>	<b>0,008</b>
<i>ALOX5</i>	rs2228064	G >> A	0,001	0,003	0,002	0,364
	rs11239505	A >> G	0,209	0,227	0,218	0,303
	<b>rs11239524</b>	<b>T &gt;&gt; G</b>	<b>0,1418</b>	<b>0,1697</b>	<b>0,1555</b>	<b>0,038</b>
	rs6593485	C >> T	0,334	0,347	0,340	0,521
	rs3780901	T >> C	0,387	0,397	0,392	0,618
	rs702366	G >> A	0,508	0,474	0,491	0,097
rs140481567	A >> C	0,000	0,002	0,001	0,239	

\* SNP: Μονονουκλεοτιδικός Πολυμορφισμός

\*\*Τιμές p που προκύπτουν από την ανάλυση με τη μέθοδο της μετάθεσης. Όριο σημαντικότητας p<0,05.

Πίνακας 3. Ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης.

Γονίδιο	SNP*	$\chi^2$	$P_{perm}$ **	$P_{assoc}$ **	OR <sup>§</sup>	95% Όρια εμπιστοσύνης		$P_{assoc}$	OR προσ <sup>#</sup>	95% Όρια εμπιστοσύνης	
ALOX5AP	rs9669952	6,290	<b>,013</b>	,012	<b>,738</b>	,581	,936	,009	,696	,489	0,885
	rs4617690	,011	,954	,918	,988	,788	1,239	,972	1,004	,773	1,367
	rs78236471	,959	1,000	,328		,000		1,000		,000	
	rs4769055	2,809	,099	,094	,865	,729	1,025	,107	,856	,573	,951
	rs9315045	3,482	,067	,062	,843	,705	1,009	,115	,854	,658	1,093
	rs3885907	1,625	,204	,202	1,110	,945	1,304	,127	1,150	,871	1,478
	rs141376946	1,044	0,489	,307	,000	,000		1,000	,000	,000	
	rs3803277	,185	,684	,667	,966	,823	1,132	,463	,935	,663	1,156
	rs9671124	0,001	1,000	,975	1,003	,855	1,175	,706	1,035	,702	1,235
	rs9508834	2,070	,158	,150	,865	,710	1,054	,057	,809	0,602	1,018
	rs9508835	2,394	,130	,122	1,143	,965	1,355	,204	1,133	,831	1,378
	rs3935644	2,323	0,130	,128	1,150	,961	1,377	,070	1,208	0,994	1,650
	rs141412081	,959	1,000	,328		,000		1,000		,000	
	rs1132340	7,365	<b>,008</b>	,007	<b>,652</b>	,478	,890	,031	,681	,474	,975
ALOX5	rs2228064	1,089	,364	,297	,319	,033	3,070	,740	,670	,065	7,466
	rs11239505	1,093	,303	,296	,903	,745	1,094	,129	,843	,637	1,066
	rs11239524	3,622	<b>,038</b>	,057	<b>,808</b>	,649	1,007	,019	,742	,564	,983
	rs6593485	,450	,521	,503	,944	,799	1,116	,686	,962	,700	1,163
	rs3780901	,273	,618	,602	,958	,814	1,127	,987	1,001	,703	1,183
	rs702366	2,814	,097	,093	1,146	,977	1,343	,099	1,164	,840	1,507
	rs140481567	2,085	,239	,149	,000	,000		,999	,000	,000	

\* SNP: Μονονουκλεοτιδικός Πολυμορφισμός, \*\*  $P_{perm}$ ,  $P_{assoc}$ : Τιμές p με τη μέθοδο της μετάθεσης, τιμές p με τη μέθοδο της λογιστικής παλινδρόμησης, § OR: Λόγος σχετικών πιθανοτήτων, # OR: μετά από προσαρμογή για ηλικία, ΔΜΣ, φύλο.

ΣΔΤ2 [OR=0,65 (95% CI, 0,47-0,89),  $P_{perm}$ =0,008], ενώ το αλληλίο C στον rs9669952\_T/C σχετίζεται με την απουσία του ΣΔΤ2 [OR=0,74 (95% CI, 0,58-0,94),  $P_{perm}$ =0,013]. Τέλος, το αλληλίο G στον rs11239524\_T/G του γονιδίου ALOX5 συσχετίστηκε με τον ΣΔΤ2 [OR=0,08 (95% CI, 0,64-1,00),  $P_{assoc}$ =0,057,  $P_{perm}$ =0,038]. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων βρίσκονται στους πίνακες 2 και 3. Για αναλυτικότερα αποτελέσματα διατίθεται η ακόλουθη διεύθυνση: <https://github.com/ftsetsos/aloxdiabetes>.

## Συζήτηση

Στην παρούσα μελέτη, έγινε προσπάθεια να εκτιμηθεί αν οι πολυμορφισμοί των γονιδίων των λιποξυγενασών σχετίζονται με την παρουσία ΣΔΤ2. Από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας, αυτή φαίνεται να είναι η πρώτη μελέτη σχετικά με τα συγκεκριμένα γονίδια και τον ΣΔΤ2 σε ελληνικό πληθυσμό. Οι ασθενείς, όπως ήταν αναμενόμενο, ήταν παχύσαρκοι αλλά είχαν ωστόσο καλύτερο λιπιδαιμικό προφίλ όσον αφορά την ολική χοληστερόλη και την LDL. Αυτό θα μπορούσε να αποδοθεί στο

γεγονός ότι οι περισσότεροι ασθενείς με ΣΔΤ2 λαμβάνουν τουλάχιστον έναν υπολιπιδαιμικό παράγοντα με ιατρική συνταγή σύμφωνα με τις συστάσεις για τη ρύθμιση της δυσλιπιδαιμίας σε διαβητικούς ασθενείς<sup>24</sup>. Ωστόσο, οι ασθενείς εμφάνισαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα HDL και υψηλότερες τιμές τριγλυκεριδίων από την ομάδα ελέγχου, ενδεχομένως ως αποτέλεσμα παχυσαρκίας, κακής γλυκαιμικής ρύθμισης και έλλειψη άσκησης<sup>25</sup>. Επιπλέον, είναι σαφές ότι η ομάδα ελέγχου είναι ηλικιακά μεγαλύτερη από την ομάδα των ασθενών, ως αποτέλεσμα του αρχικού ηλικιακού περιορισμού όπως φαίνεται από τον σχεδιασμό της μελέτης. Ενδιαφέρον προκαλεί το ότι οι γυναίκες ασθενείς είχαν χαμηλότερα επίπεδα HbA1c από τους άνδρες ασθενείς, παρά το γεγονός ότι οι άνδρες ασθενείς ήταν νεότεροι και πιο αδύνατοι. Ενδεχομένως, τέτοιες διαφορές μπορούν να αποδοθούν σε διαφορές στην κατανομή και σύσταση του υποδόριου λίπους, καθώς η περιμέτρος μέσης είναι σαφώς μικρότερη στην ομάδα ελέγχου. Μέχρι τώρα, δεν έχει δειχθεί παρόμοια συσχέτιση σε ελληνικό πληθυσμό.

Η διόρθωση κατά Bonferroni στις μελέτες συσχέτισης, όπως αναφέρθηκε, φαίνεται να επιφέρει συντηρητικά αποτελέσματα και για τον λόγο αυτό κανένα από τα SNPs που μελετήθηκαν δεν έδειξε σημαντικότητα. Χρησιμοποιώντας τη δεύτερη μέθοδο με τον υπολογισμό των «αποτελεσματικών» SNPs, το όριο σημαντικότητας ανήλθε στην τιμή 0,001, χωρίς, ωστόσο, ανάδειξη σημαντικών αποτελεσμάτων. Η εφαρμογή της δοκιμασίας με τη μέθοδο της μετάθεσης επέτρεψε τον υπολογισμό νέων, εμπειρικών, όπως ονομάζονται, τιμών p που ανέδειξαν την πιθανή συσχέτιση των γονιδίων *ALOX* με τον ΣΔΤ2. Πιο συγκεκριμένα, τα αποτελέσματα φαίνεται να υπαινίσσονται έναν προστατευτικό ρόλο του *ALOX5AP*. Οι φορείς του αλληλίου G στον rs1132340 έχουν 34,8% λιγότερη πιθανότητα να νοσήσουν από ΣΔΤ2. Ομοίως, οι φορείς του αλληλίου C στον rs9669952 στο ίδιο γονίδιο είναι 26,2% λιγότερο πιθανό να συσχετιστούν με τη νόσο. Αυτοί οι δύο πολυμορφισμοί δεν έχουν μέχρι τώρα συσχετιστεί με τον ΣΔΤ2. Ο rs1132340 βρίσκεται στην 3-αμετάφραστη περιοχή του γονιδίου στο χρωμόσωμα 13, ενώ ο rs9669952 σε εσώνιο στο ίδιο χρωμόσωμα. Δεν έχουν προταθεί μέχρι τώρα στη διεθνή βιβλιογραφία πιθανοί μηχανισμοί δράσης αυτών των δύο πολυμορφισμών. Άλλοι πολυμορφισμοί του ίδιου γονιδίου έχουν συσχετιστεί με αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια σε ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο<sup>26</sup>. Το *ALOX5AP* έχει συσχετιστεί με δείκτες υποκλινικής αθηρομάτωσης, ενώ οι απλότυποι του φαίνεται να σχετίζονται με ισχαιμία του μυοκαρδίου και εγκεφαλικά επεισόδια σε πληθυσμό με ΣΔΤ2, ενισχύοντας ακόμη περισσότερο τη σύνδεση μεταξύ διαβήτη και καρδιαγγειακής νόσου<sup>14,27</sup>. Επιπλέον, τα αποτελέσματα αναφέρουν ότι οι φορείς του G αλληλίου για το rs11239524\_T/G του γονιδίου *ALOX5* έχουν 19,2% λιγότερες πιθανότητες να εμφανίσουν ΣΔΤ2. Αυτός ο προστατευτικός ρόλος του rs11239524 είναι επίσης νέος, καθώς δεν έχει μέχρι τώρα περιγραφεί στη βιβλιογραφία. Ο Burdon και οι συνεργάτες του, ωστόσο, δεν κατάφεραν να συσχετίσουν το rs11239524 καθώς και άλλους πολυμορφισμούς του *ALOX5* με δείκτες υποκλινικής αθηροσκλήρωσης<sup>14</sup>. Σε μια πρόσφατη μελέτη από τον Heemsterk και τους συνεργάτες του, τα γονίδια *ALOX5* και *ALOX5AP* εκφράζονται σημαντικά περισσότερο στο υποδόριο λευκό λίπος γυναικών με ΣΔΤ2 συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου<sup>28</sup>. Το *ALOX5AP*, επίσης, έχει συσχετιστεί με την

παχυσαρκία και την ινσουλινοαντίσταση, παράγοντες που συμμετέχουν ενεργά στην εμφάνιση του ΣΔΤ2. Ειδικότερα, όσο υψηλότερα ήταν τα επίπεδα του *ALOX5AP* mRNA, τόσο αυξανόταν και ο δείκτης HOMA-IR, συνδέοντας περαιτέρω τα γονίδια των λιποξυγενασών με τον μεταβολισμό της γλυκόζης<sup>29</sup>. Μια πρόσφατη μελέτη από τον Elias και τους συνεργάτες του έδειξε ότι διαγονιδιακά ποντίκια που υπερεκφράζουν το *ALOX5AP* στον λιπώδη ιστό, είχαν υψηλότερα επίπεδα A4 λιποξίνης, ήταν πιο αδύνατα και γενικότερα είχαν αυξημένες ενεργειακές ανάγκες, εν μέρει λόγω της μετατροπής του λευκού λιπώδους ιστού σε φαιό, προτείνοντας έναν πιθανό μηχανισμό δράσης<sup>30</sup>.

Μετά την ανάλυση παλινδρόμησης και προσαρμοζοντας τις τιμές για παράγοντες, όπως η ηλικία, το φύλο και ο ΔΜΣ, δεν αναδείχθηκε κάποια στατιστική σημαντική συσχέτιση είτε με τη διόρθωση κατά Bonferroni, είτε με τη μέθοδο των «αποτελεσματικών» SNPs, ενώ με τη δοκιμασία ανάλυσης με μετάθεση δεν ήταν δυνατό να υπολογιστούν νέα p προσαρμοσμένα στους προαναφερθέντες παράγοντες.

**Περιορισμοί-Μειονεκτήματα.** Τα αποτελέσματα είναι ενδεικτικά μιας πιθανής συσχέτισης των γονιδίων *ALOX5* και *ALOX5AP* με τον ΣΔΤ2, αν και η μελέτη υπόκειται σε μια σειρά περιορισμών, με πρώτο αυτόν του μεγέθους δείγματος. Μια μελέτη με μεγαλύτερη δύναμη θα ήταν ιδανική. Πρόκειται για μελέτη ασθενών-μαρτύρων όπου η δειγματοληψία της ομάδας ελέγχου περιορίζεται σε λίγες χρονικές στιγμές. Για τον λόγο αυτό, η ηλικία της ομάδας ελέγχου ήταν αυστηρά περιορισμένη και μάλιστα σε ηλικιωμένους ασθενείς, σε μια προσπάθεια να αποκλειστούν μελλοντικές περιπτώσεις ΣΔΤ2 που σε νεαρότερη ηλικία δεν θα είχαν ακόμα εμφανιστεί. Αυτός ο περιορισμός, ωστόσο, είναι πιθανό να επέτρεψε την ανάδειξη προστατευτικών γονιδίων. Ακόμη, η χρήση των τιμών ΓΝ και HbA1c συγκριτικά με τη ΓΝ μόνο, είναι ένα από τα πλεονεκτήματα της μελέτης, αν και το αριθμητικό όριο του 6,5% αντί για κάποια χαμηλότερη τιμή ενδεχομένως να έχει επιτρέψει την παρουσία κάποιων περιστατικών προδιαβήτη στην ομάδα ελέγχου. Αξίζει να σημειωθεί ως περιορισμός της μελέτης και η απουσία δοκιμασίας ανοχής στη γλυκόζη, ως μέσο διάγνωσης του ΣΔΤ2. Τέλος, να αναφέρουμε την αδυναμία προσαρμογής για επιπλέον παράγοντες με τη μέθοδο της μετάθεσης.

Συμπερασματικά, τα γονίδια *ALOX5* και

*ALOX5AP* φαίνεται να διαδραματίζουν κάποιο ρόλο στην παθογένεια του ΣΔΤ2 μέσω της φλεγμονής σε παγκρεατικό και λιπώδη ιστό. Σε αυτή τη μελέτη συσχέτισης ασθενών-μαρτύρων, προκύπτουν μεταλλάξεις των υποψηφίων γονιδίων που φαίνεται να παρέχουν μια σχετική προστασία από μια μελλοντική εμφάνιση ΣΔΤ2. Τα αποτελέσματα φαίνεται να συνάδουν εν μέρει με τη διεθνή βιβλιογραφία. Περισσότερες μελέτες με μεγαλύτερο και αυστηρότερα επιλεγμένο δείγμα πληθυσμού χρειάζονται για να παρέχουν επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων καθώς και μελέτες σε πειραματόζωα που θα αποσαφηνίσουν τον ρόλο των ΛΠΕ στον ΣΔΤ2.

## Ευχαριστίες

Η Ξ. Τσεκμεκίδου θα ήθελε να ευχαριστήσει θερμά την Ελληνική Εταιρεία Μελέτης και Εκπαίδευσης για τον Σακχαρώδη Διαβήτη για τη χρηματική και ηθική υποστήριξη στην εκπόνηση της διδακτορικής της διατριβής, αποτελέσματα της οποίας δημοσιεύονται στο συγκεκριμένο άρθρο.

## Abstract

**Tsekmekidou X, Tsetsos F, Georgitsi M, Roumeliotis A, Papanas N, Paschou P, Yovos J, Kotsa K. Assessment of association of ALOX5 and ALOX5AP genes variants in elderly Greek population with type 2 diabetes mellitus. Hellenic Diabetol Chron 2018; 1: 32-39.**

**Introduction:** The role of inflammation in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus (T2DM) has been under discussion. Arachidonic acid and its metabolites have been extensively studied in the context of inflammation in different metabolic pathways. Arachidonic acid lipoxygenases are enzymes that catalyze it to its anti-inflammatory metabolites. Lipoxygenase genes variations have been associated with the complication of T2DM. The present study aims to explore the association between ALOX5 and ALOX5AP genes and T2DM.

**Materials-Methods:** A total of 1.285 elderly participated in the study, 716 were patients with T2DM. The absence of disease in control group was documented by HbA1c levels < 6.5% and fasting plasma glucose levels < 126 mg/dl. Population characteristics and blood chemistry were documented. DNA was extracted from whole blood and samples were analyzed on Illumina Infinium PsychArray. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) for ALOX5 and ALOX5AP genes were selected and statistical analyses were undertaken within SPSS and PLINK statistical packages. Permu-

tation test analysis was implemented, as it is considered gold standard method, regarding genetic association studies. P-values < 0.05 were considered significant.

**Results:** There is a female dominance in the selected population with 52.2% of the T2DM group and 61.8% of the control group being women. Mean diabetes duration was 14.39±9.29 years. Twenty-one SNPs were studied in two different genes. Further statistical analysis of the genotyped results associated rs9669952 (OR=0.738, p=0.013) and rs1132340 (OR=0.652, p=0.008) of ALOX5AP gene and rs11239524 of ALOX5 gene (OR=0.808, p=0.038) with T2DM. No other associations were significant.

**Discussion:** Study results may indicate a protective role of ALOX5 and ALOX5AP genes in the pathogenesis of T2DM, connecting further diabetes and inflammation. However, more studies with larger sample sizes are required for the replication of our findings and the search for possible mechanisms of action.

## Βιβλιογραφία

1. World Health Organization. Global report on diabetes 2016.
2. IDF Diabetes Atlas 7th Edition (2015).
3. Haeggström JZ, Funk CD. Lipoxygenase and Leukotriene Pathways: Biochemistry, Biology, and Roles in Disease. Chem Rev 2011; 111: 5866-98.
4. Powell WS, Rokach J. Biosynthesis, biological effects, and receptors of hydroxyeicosatetraenoic acids (HETEs) and oxoeicosatetraenoic acids (oxo-ETEs) derived from arachidonic acid. Biochim Biophys Acta – Mol Cell Biol Lipids 2015; 1851: 340-55.
5. Khan SA, Ali A, Khan SA, Zahran SA, Damanhour G, Azhar E, et al. Unraveling the complex relationship triad between lipids, obesity, and inflammation. Mediators Inflamm 2014; 2014: 1-16.
6. Chen M, Yang ZD, Smith KM, Carter JD, Nadler JL. Activation of 12-lipoxygenase in proinflammatory cytokine-mediated beta cell toxicity. Diabetologia 2005; 48: 486-95.
7. Ma K, Nunemaker CS, Wu R, Chakrabarti SK, Taylor-Fishwick DA, Nadler JL. 12-Lipoxygenase Products Reduce Insulin Secretion and {beta}-Cell Viability in Human Islets. J Clin Endocrinol Metab 2010; 95: 887-93.
8. Augustin AJ, Grus FH, Koch F, Spitznas M. Detection of eicosanoids in epiretinal membranes of patients suffering from proliferative vitreoretinal diseases. Br J Ophthalmol 1997; 81: 58-60.
9. Schwartzman ML, Iserovich P, Gotlinger K, Bellner L, Dunn MW, Sartore M, et al. Profile of lipid and protein autoantibodies in diabetic vitreous correlates with the progression of diabetic retinopathy. Diabetes 2010; 59: 1780-8.
10. Tersey SA, Maier B, Nishiki Y, Maganti A V, Nadler JL, Mirmira RG. 12-lipoxygenase promotes obesity-induced oxidative stress in pancreatic islets. Mol Cell Biol 2014; 34: 3735-45.
11. Grzesik WJ, Nadler JL, Machida Y, Nadler JL, Imai Y, Morris MA. Expression pattern of 12-lipoxygenase in human islets with type 1 diabetes and type 2 diabetes. J

- Clin Endocrinol Metab 2015; 100: E387-95.
12. Song Y-S, Lee DH, Yu J-H, Oh D-K, Hong JT, Yoon D-Y. Promotion of adipogenesis by 15-(S)-hydroxyecosate-traenoic acid. Prostaglandins Other Lipid Mediat [Internet]. 2016; 123: 1-8.
  13. Liu Y, Freedman BI, Burdon KP, Langefeld CD, Howard T, Herrington D, et al. Association of arachidonate 12-lipoxygenase genotype variation and glycemic control with albuminuria in type 2 diabetes. Am J Kidney Dis 2008; 52: 242-50.
  14. Burdon KP, Rudock ME, Lehtinen AB, Langefeld CD, Bowden DW, Register TC, et al. Human lipoxygenase pathway gene variation and association with markers of subclinical atherosclerosis in the diabetes heart study. Mediators Inflamm 2010; 2010: 1-9.
  15. Einhorn D. AACE/ACE Position Statement. American Association of Clinical Endocrinologists / American College Of Endocrinology Statement on the use of Hemoglobin A1c for the Diagnosis Of Diabetes. Endocr Pract 2010; 16: 155-6.
  16. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes – 2013. Diabetes Care 2013; 36 (Suppl.1): S11-S66.
  17. Price AL, Patterson NJ, Plenge RM, Weinblatt ME, Shadick NA, Reich D. Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. Nat Genet 2006; 38: 904-9.
  18. Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MAR, Bender D, et al. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. Am J Hum Genet 2007; 81: 559-75.
  19. Chang CC, Chow CC, Tellier LC, Vattikuti S, Purcell SM, Lee JJ. Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. Gigascience 2015; 4: 7.
  20. Salyakina D, Seaman SR, Browning BL, Dudbridge F, Muller-Myhsok B. Evaluation of Nyholt's procedure for multiple testing correction. Hum Hered 2005; 60: 19-25.
  21. Churchill GA, Doerge RW. Empirical threshold values for quantitative trait mapping. Genetics 1994; 138: 963-71.
  22. Gao X, Starmer J, Martin ER. A multiple testing correction method for genetic association studies using correlated single nucleotide polymorphisms. Genet Epidemiol 2008; 32: 361-9.
  23. Hendricks AE, Dupuis J, Logue MW, Myers RH, Lunetta KL. Correction for multiple testing in a gene region. Eur J Hum Genet 2014; 22: 414-8.
  24. American Diabetes Association. Cardiovascular disease and risk management. Sec. 9. In Standards of Medical Care in Diabetes d2017. Diabetes Care 2017; 40 (Suppl. 1): S75-S87.
  25. Subramanian S, Chait A. Hypertriglyceridemia secondary to obesity and diabetes. Biochim Biophys Acta – Mol Cell Biol Lipids 2012; 1821: 819-25.
  26. Watanabe S, et al. Association of genetic variants with atherothrombotic cerebral infarction in Japanese individuals with metabolic syndrome. Int J Mol Med 2008; 21: 801-8.
  27. Helgadóttir A, Manolescu A, Thorleifsson G, Gretarsdóttir S, Jonsdóttir H, Thorsteinsdóttir U, et al. The gene encoding 5-lipoxygenase activating protein confers risk of myocardial infarction and stroke. Nat Genet 2004; 36: 233-9.
  28. Heemskerk MM, Giera M, Bouazzaoui F El, Lips MA, Pijl H, van Dijk KW, et al. Increased PUFA Content and 5-Lipoxygenase Pathway Expression Are Associated with Subcutaneous Adipose Tissue Inflammation in Obese Women with Type 2 Diabetes. Nutrients 2015; 7: 7676-90.
  29. Kaaman M, Rydén M, Axelsson T, Nordström E, Sicard A, Bouloumié A, et al. ALOX5AP expression, but not gene haplotypes, is associated with obesity and insulin resistance. Int J Obes (Lond) 2006; 30: 447-52.
  30. Elias I, Ferré T, Vilà L, Muñoz S, Casellas A, Garcia M, et al. ALOX5AP Overexpression in Adipose Tissue Leads to LXA4 Production and Protection Against Diet-Induced Obesity and Insulin Resistance. Diabetes 2016; 65: 2139-50.

**Λέξεις-κλειδιά:**

Λιποξυγενάση  
Γονίδιο  
Μονονουκλεοτιδικός πολυμορφισμός  
Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2

**Key-words:**

Lipoxygenase  
Gene  
Single Nucleotide Polymorphism (SNP)  
Type 2 Diabetes Mellitus