ORIGINAL ARTICLE

# *Association of kcnj11 E23K Promoter Polymorphism with Type 2 Diabetes*

Fatemeh Sayehmiri[1,2],
Ali Asgar Moshtaghie[2],
Salar Bakhtiyari[3]

[1] MSc in Biochemistry, Prevention of Psychosocial Injuries Research Center, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran
[2] MSc in Biochemistry, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Isfahan, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran

(Received June 23, 2014 ; Accepted January 19, 2015)

## *Abstract*

**Background and purpose:** The E23K polymorphism of ATP-sensitive potassium channel kcnj11 gene leads to the conversion of glutamate to lysine amino acids and this substitution is associated with increased risk of several diseases such as diabetes. We aimed to examine the association between kcnj11 E23K variation and risk of type 2 diabetes mellitus (T2DM) in a Kurdish population.

**Material and methods:** The study population included 173 patients with T2DM and 173 normoglycemic subjects. All subjects were genotyped using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). Genotypic and allelic frequencies were then analyzed in each group. Serum lipids, fasting glucose, fasting serum insulin, HOMA-IR, and HbA1c levels were also determined. Data analysis was performed using SPSS software.

**Results:** Significant differences were seen between the two groups for allelic frequency of the T allele (P=0.006). Also, the genotype frequencies showed a significant difference in CT genotype between the case and control individuals (OR=2.77, 95% CI: 1.29-5.97, P=0.009). Similarly, in the dominant model, the kcnj11 E23K was found to be significantly associated with T2DM (OR=2.72, 95% CI: 1.30-5.68, P=0.008). However, we did not observe any significant association in the recessive model (P>0.05).

**Conclusion:** This study was performed for the first time in the Kurdish ethnic group in Iran. The E23K polymorphism of the kcnj11 was found to be significantly associated with T2DM in the studied population.

***Keywords:*** kcnj11, E23K,type 2 diabetes, Kurd

**J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 25(121): 1-8 (Persian).**

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و چهارم شماره ۱۲۱ بهمن سال ۱۳۹۳ (۸-۱)

# بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم K23 E پروموتور ژن kcnj ۱۱ و دیابت نوع ۲

فاطمه سایه میری[۱و۲]
سید علی‌اصغر مشتاقی[۲]
سالار بختیاری[۳]

## چکیده

**سابقه و هدف:** پلی مورفیسم E۲۳K ژن kcnj۱۱ زیر واحد سازنده منفذ کانال پتاسیمی حساس به ATP، باعث تبدیل اسیدآمینه گلوتامات به لیزین می‌شود و این جانشینی با افزایش خطر ابتلا به برخی از بیماری‌ها از جمله دیابت همراه است. هدف این مطالعه بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم E۲۳K از ژن kcnj۱۱ با بیماری دیابت نوع ۲ در جمعیت کرد بود.

**مواد و روش‌ها:** در مجموع ۱۷۳ نفر مبتلا به دیابت نوع ۲ و ۱۷۳ نفر با قندخون نرمال در این مطالعه وارد شدند. برای تعیین ژنوتیپ افراد PCR-RFLP بکار گرفته شد. سپس فراوانی‌های ژنوتیپی و آللی در هر دو گروه مورد بررسی قرار گرفت. اندازه‌گیری لیپیدهای سرم و قندخون ناشتا، انسولین سرم، HOMA-IR، و سطح هموگلوبین گلیکوزیله (HbA1c) انجام شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد اختلاف معنی‌داری بین فراوانی الل بین دو گروه مورد و شاهد وجود دارد(p=۰/۰۰۶). همچنین فراوانی ژنوتیپ‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در ژنوتیپ CT بین افراد مورد و شاهد وجود دارد (OR= ۲/۷۷، ۹۵٪ CI: ۱/۲۹-۵/۹۷ ، p=۰/۰۰۹). به طور مشابه، در مدل غالب، بین پلی‌مورفیسم مذکور ژن kcnj۱۱ و دیابت نوع ۲ ارتباط معنی‌داری وجود داشت (OR= ۲/۷۲، ۹۵٪ CI: ۱/۳۰-۵/۶۸ ، p=۰/۰۰۸). اما ارتباط معنی‌داری در مدل مغلوب مشاهده نشد (p>۰/۰۵).

**استنتاج:** این مطالعه اولین مطالعه انجام شده در قوم کرد از غرب ایران است. نتایج نشان داد که پلی مورفیسم E ۲۳K ژن kcnj۱۱ با دیابت نوع دو در نژاد کرد غرب ایران ارتباط دارد.

**واژه های کلیدی:** دیابت نوع ۲؛ پلی‌مورفیسم E۲۳K ؛ ژن kcnj۱۱

## مقدمه

دیابت به گروهی از بیماری‌های متابولیک اطلاق می‌شود که وجه مشترک آن‌ها بالا بودن گلوکز خون است. دیابت شایع‌ترین علت نارسائی کلیه، نابینایی، آمپوتاسیون غیرتروماتیک و نوروپاتی است(۱).

دیابت بیماری پیچیده‌ای است که فاکتورهای ژنتیکی و غیرژنتیکی مثل فاکتورهای محیطی در بروز آن نقش دارد. با توجه به گستردگی، پیچیدگی و چند عاملی بودن بیماری دیابت شناخت دقیق عوامل ژنتیکی مرتبط با دشواری‌هایی همراه است. تاکنون مطالعات ژنومی مختلفی در چندین کشور و نژاد جهت شناسایی

**مولف مسئول: سالار بختیاری**- ایلام: دانشگاه علوم پزشکی ایلام، دانشکده پزشکی E-mail: bakhtiyaribio@yahoo.com
۱. کارشناسی ارشد بیوشیمی، مرکز تحقیقات آسیب های روانی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران
۲. کارشناسی ارشد بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان، ایران
۳. استادیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۳/۴/۲ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۳/۶/۱۵ تاریخ تصویب : ۱۳۹۳/۱۰/۲۹

ژن‌های مرتبط با دیابت نوع دو انجام شده است. به نظر می‌رسد که کلیه ژن‌های درگیر در مسیر پیام‌رسانی انسولین، مسیر بیوسنتز انسولین در پانکراس و چاقی می‌توانند کاندیداهای بالقوه علت ایجاد این بیماری باشند، ژن کاندید در این مطالعه KCNJ۱۱ (potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member) می‌باشد(۲).

کانال‌های پتاسیم در اکثر سلول‌های پستانداران وجود دارند و آن‌ها در طیف گسترده‌ای از پاسخ‌های فیزیولوژیک شرکت دارند. مطالعات حاکی از دخالت کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP (KATP) در تنظیم آستانه تشنج در افراد دیابتی و هم‌چنین نقش این کانال‌ها در بیماری‌های قلبی- عروقی است. ژن مورد مطالعه همچنین نقش کلیدی در ترشح انسولین دارد و در ساخت کانال‌های پتاسیمی نقش دارد. در نتیجه این ژن همواره به عنوان کاندیدای بسیار عالی برای دخالت در دیابت نوع دو در نظر گرفته شده است(۳). این ژن دستورالعملی را برای ساخت زیرواحدهای کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP فراهم می‌کند. KATP در سلول‌های بتا دو نوع زیر واحد مختلف دارد که شامل: زیرواحد Kir ۶/۲ و زیرواحد SUR۱ است(۴). پروتئین کد شده توسط این ژن یک پروتئین غشای انتگرال و یکسوکننده درونی کانال‌های پتاسیمی است. کانال KATP ترشح انسولین را به خارج از سلول‌های بتا و در گردش خون کنترل می‌کند. این کانال‌ها در پاسخ به مقدار گلوکز در گردش خون باز و بسته می‌شوند و هر کدام از این‌ها به تنظیم ترشح انسولین و کنترل سطح قند خون کمک می‌کنند(۵).

بنابراین با توجه به نقش عوامل ژنتیکی در ایجاد بیماری دیابت نوع دو، بررسی ژن‌های مرتبط با این بیماری ضروری به نظر می‌رسد لذا در این مطالعه ارتباط پلی‌مورفیسم E۲۳K ژن kcnj۱۱ با دیابت نوع دو مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

*جامعه مورد پژوهش:* در این مطالعه مورد- شاهدی ۳۴۶ نفر شامل ۱۷۳ بیمار دیابتی نوع۲ و ۱۷۳ فرد با گلوکز طبیعی، در محدوده سنی ۴۰ تا ۶۵ سال شرکت کردند.پس از نمونه‌گیری، نمونه‌ها به آزمایشگاه بیوشیمی انتقال داده شدند. داوطلبین به مدت ۱۲ ساعت قبل از انجام ازمایشات از خوردن، فعالیت شدید فیزیکی و استعمال دخانیات امتناع ورزیدند. افراد گروه کنترل فاقد هرگونه اختلال گلوکز(IFG و IGT) و بیماری‌های قلبی عروقی (با تهیه الکتروکاردیوگرام) بودند در گروه مورد به منظور حذف اثر انسولین تزریقی بر میزان مقاومت به انسولین، بیمارانی که انسولین دریافت کرده بودند، از مطالعه خارج شدند. وزن با حداقل پوشش ممکن و بدون کفش با استفاده از یک ترازوی دیجیتال و قد با استفاده از متر نواری و در وضعیت ایستاده و بدون کفش در حالتی که کتف‌ها در شرایط عادی قرار گرفته، اندازه‌گیری شد. نمایه توده بدنیاز نسبت وزن (برحسب کیلوگرم) به مجذور قد (برحسب مترمربع) محاسبه گردید.

*آزمایشات بیوشیمیایی:* جهت اندازه‌گیری غلظت متابولیت‌ها مانند گلوکز، کلسترول، LDL، HDL، اوره، اسیداوریک، تری‌گلیسرید، کراتینین، SGOT و SGPT از اتوآنالایزر (BT۳۰۰۰) استفاده شد. مقاومت به انسولین (شرایطی که در آن سلول‌های بدن پاسخ مناسبی به انسولین نمی‌دهند و به دنبال آن جذب گلوکز دچار اختلال شده و به طورثانویه باعث افزایش قند خون می‌شود) در حالت پایه مورد ارزیابی قرار گرفت و با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

HOMA-IR= Insulin (μU/ml)×Glucose (mmol/l) / ۲۲/۵

*تعیین ژنوتیپ:* از هر یک از افراد مورد مطالعه پس از ۱۲ساعت ناشتا بودن، ۱۰ میلی لیتر خون سیاهرگی گرفته شد. نیمی از این نمونه خون برای آزمایشات بیوشیمیایی و نیمه دیگر برای استخراج DNA مورد قرار گرفت. استخراج DNA ازگلبول‌های سفید خون با استفاده از کیت استخراج DNA(شرکت کیاژن) انجام گرفت. تکثیر قطعه ۴۴۹ جفت بازی از ژن kcnj۱۱ که حاوی محل پلی‌مورفیسم مورد بررسی بود، با استفاده از تکنیک

PCR انجام گردید. پرایمرهای مورد استفاده شامل: Forward: 5′-AGAAAAGGAAGGCAGACGAGAAG-3′ و Reverse: 5′-GACTCTGCAGTGAGGCCCTA-3′ بودند. برنامه زمانی واکنش به‌صورت: ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه، سپس ۳۰ چرخه شامل: ۹۴ درجه سانتی‌گراد (۴۰ ثانیه) جهت واسرشت‌سازی دو رشته DNA، ۶۲ درجه (۴۰ ثانیه) جهت اتصال پرایمر به DNA و ۷۲ درجه (۴۵ثانیه) برای طویل شدن. پس از اتمام ۳۰ چرخه، مخلوط واکنش به مدت ۴ دقیقه در دمای ۷۲ درجه باقی ماند تا عمل طویل شدن نهایی انجام شود. آنزیم محدودگر برای پلی‌مورفیسم E ۲۳K ژن kcnj۱۱، آنزیم BANII می‌باشد. ۵ میکرولیتر از محصول PCR در دمای ۳۷درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۶ ساعت توسط آنزیم BANII هضم شد. برای تعیین ژنوتیپ افراد، مقدار ۱۰ میکرولیتر از محصول RFLP را با ۲ میکرولیتر رنگ مخصوص لود کردن (Loading dye) مخلوط کرده و روی ژل پلی‌آکریل‌آمید ۱۲درصد الکتروفورز گردید. پس از اتمام الکتروفورز و بعد از رنگ‌آمیزی توسط Safe stain باندهای مورد نظر در دستگاه ژل داکیومنتیشن رویت شدند.

*تجزیه و تحلیل آماری:*

برای بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم‌ها با فاکتورهای بیوشیمیایی و تن‌سنجی از آزمون‌های unpaired، Anova، Glm استفاده شد. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. فراوانی آلل با شمارش آلل‌ها و محاسبه نسبت آن‌ها تعیین شد. با آزمون کای مربع، قرار داشتن جامعه در تعادل هاردی واینبرگ تایید شد. در نهایت با کمک آزمون کای مربع توزیع ژنوتیپ و آلل‌های مختلف در دو گروه بیمار و شاهد مقایسه شد.

## یافته ها

در این تحقیق ۳۴۶ نفر (۱۷۳ بیمار دیابتی نوع۲ و ۱۷۳ فرد با گلوکز طبیعی) مورد بررسی قرار گرفتند. جدول شماره ۱ اطلاعات دموگرافیک و نتایج آزمایشات بیوشیمیایی این افراد را نشان می‌دهد. با توجه به اینکه برای تمامی پارامترها مقادیر p کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد، بنابراین ارتباط معنی‌داری در هر دو گروه کنترل و دیابتی با پارامترهای بیوشیمیایی دیده شد. برای بررسی پلی‌مورفیسم E ۲۳K ژن kcnj۱۱ ناحیه‌ای به طول ۴۴۹ جفت باز با استفاده از روش PCR تکثیر شد.

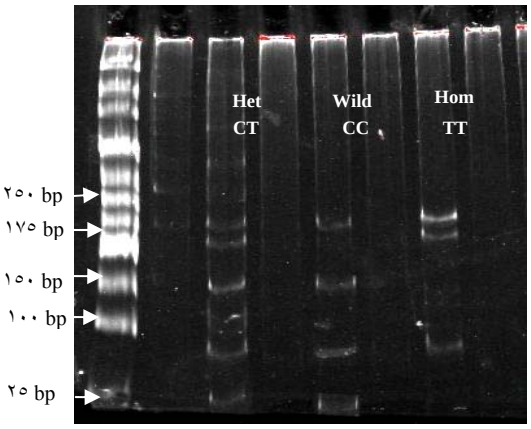
**جدول شماره ۱:** مشخصات دموگرافیک و تست های بیوشیمیایی افراد شرکت کننده

| پارامتر ها | گروه | | |
|---|---|---|---|
| | دیابتی | کنترل | سطح معنی داری |
| تعداد افراد(زن –مرد) | ۱۷۳(۹۳/۱۰۰) | ۱۷۳(۸۲/۹۱) | – |
| سن( سال) | ۵۴/۱±۸/۶۵ | ۵۰/۴۰±۹/۲۲ | ۰/۰۰۰۱ |
| نسبت دور کمر به دور باسن | ۰/۹۲±۰/۰۵ | ۰/۸۷±۰/۰۹ | ۰/۰۰۰۱ |
| نمایه توده بدن ($kg/m^2$) | ۲۶/۱±۳/۸۵ | ۲۳/۸±۳/۰۵ | ۰/۰۰۰۱ |
| گلوکز (mmol/L) | ۹/۳۲±۲/۳۴ | ۵/۱۶±۰/۶۷ | ۰/۰۰۰۱ |
| HbA1c(٪) | ۸/۸±۰/۹۱ | ۵/۶±۰/۶۵ | ۰/۰۰۰۱ |
| تری گلیسرید (mmol/L) | ۲/۱±۱/۶ | ۱/۶±۰/۲۸ | ۰/۰۰۰۱ |
| کلسترول (mmol/L) | ۵/۷۳±۰/۳۳ | ۴/۵±۰/۲۷ | ۰/۰۰۰۱ |
| HDL-C (mmol/L) | ۱/۱۷±۰/۲۵ | ۱/۳۶±۰/۳۱ | ۰/۰۰۰۱ |
| LDL-C (mmol/L) | ۳/۳۹±۰/۸۸ | ۳/۱۱±۰/۸۵ | ۰/۰۰۰۱ |
| فشار خون سیستولی(mmHg) | ۱۲۹/۱۴±۱۶/۲۵ | ۱۱۶/۳۶±۱۵/۳۶ | ۰/۰۰۰۱ |
| فشار خون دیاستولی(mmHg) | ۸۶/۲۷±۱۰/۰۵ | ۷۷/۹۴±۸/۶۳ | ۰/۰۰۰۱ |
| انسولین (µIU/ml) | ۹/۳۶±۰/۴ | ۷/۱۶±۰/۲۸ | ۰/۰۰۰۱ |
| HOMA-IR | ۳/۲۴±۰/۵۴ | ۱/۷۲±۰/۳۶ | ۰/۰۰۰۱ |

اگر بر روی ژل ۴ باند مشاهده گردد نشان‌دهنده این است که هر دو آلل آن فرد از نوع جهش یافته می‌باشند و به صورت CC نشان داده می‌شود. اگر۳ باند ظاهر گردد نشان‌دهنده موتانت هموزیگوت می‌باشد و ژنوتیپ به صورت TT می‌باشد. درصورتی که ۵ باند مشاهده گردد یعنی یکی از آلل ها جهش یافته وآلل دیگر غیر جهش یافته می‌باشد و ژنوتیپ به صورت CT است (تصویر شماره ۱).

داده‌ها در جدول بالا به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده‌اند. مقادیر p کم‌تر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شده است. (BMI) نمایه توده بدن است، (HDL-C) کلسترول با دانسیته لیپوپروتئین بالا، (LDL-C) کلسترول با دانسیته لیپوپروتئین پائین، (HbA1c) هموگلوبین A1c، (HOMA-IR) یکی از روش‌های

سنجش مقاومت به انسولین است. داده‌ها براساس انحراف معیار و p<۰/۰۵ ارتباط معنادار پیدا می کنند. همان‌طور که مشاهده می‌شود بین پارامترهای تن‌سنجی و بیوشیمیایی و افراد دیابتی و کنترل مقدار p<۰/۰۵ بوده و ارتباط معنادار وجود دارد.




**تصویر شماره ۱:** نتایج RFLP مربوط به پلی‌مورفیسم E ۲۳K ژن kcnj۱۱ بر روی ژل پلی‌اکریل آمید. M: شاخص ۱۰۰ bp. Wild = وحشی؛ Het = هتروزیگوت؛ Hom = هموزیگوت.

همان‌طورکه در جدول شماره ۲ نشان داده شده است در آنالیز ژنوتیپ CT، TT و مدل غالب ($CC_{vs.}CT+TT$) با روش رگرسیون مرحله‌ای (Categorical regression) تفاوت معنی‌دار وجود داشت. این نتایج حاکی از نقش مستعدکننده این جهش در بروز دیابت نوع ۲ می‌باشد.

**جدول شماره ۲:** فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم E۲۳K ژن kcnj۱۱

| ژنوتیپ | غیر دیابتی (%) ۱۷۳ | دیابتی (%) ۱۷۳ | OR (% ۹۵ CI) | سطح معنی داری |
|---|---|---|---|---|
| CC | ۱۶۲ (۹۳/۶) | ۱۴۶ (۵۶/۱) | Reference | |
| CT | ۱۰ (۵/۸) | ۲۵ (۱۴/۵) | ۲/۷۷ (۱/۲۹–۵/۹۷) | ۰/۰۰۹ |
| TT | ۱(۶) | ۲ (۱/۲) | ۲/۲۲ (۰/۱۹–۲۴/۷) | ۰/۵۱ |
| CC vs. CT+TT | - | - | ۲/۷۲ (۱/۳۰–۵/۶۸) | ۰/۰۰۸ |
| CC+CT vs. TT | – | – | ۲/۰۱ (۰/۱۸–۲۲/۳۹) | ۰/۵۷ |
| C | ٪۹۲ | %۹۷ | ۲/۸۱ (۰/۷۲–۱۰/۹۲) | ۰/۱۳۵ |
| T | %۸ | %۳ | | |

* تمام داده‌ها بر اساس سن، جنس و BMI تعدیل شدند. پس از تصحیح Bonferroni مقادیر P < ۰/۰۱۶۷ به عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شدند.

برای بررسی بیشتر و شناخت ارتباط این ژن با پارامترهای کلینیکی و بیوشیمیایی، ارتباط این پارامترها با ژنوتیپ CC و مجموع ژنوتیپ‌های CT و TT در افراد غیردیابتی و دیابتی به طور جداگانه آنالیز شدند.که نتایج آن‌ها درجداول شماره ۳ و ۴ آورده شده است.

**جدول شماره ۳:** مقایسه پارامترهای کلینیکی و بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم E۲۳K ژن kcnj۱۱ در افراد غیردیابتی (گروه کنترل) بر اساس مدل غالب

| ویژگی‌های افراد شرکت کننده | CC n=۱۶۲ | CT+TT n=۱۱ | سطح معنی داری |
|---|---|---|---|
| سن (سال) | ۵۰/۳۱±۹/۷۴ | ۵۰/۰۰±۸/۳۱ | ۰/۹۱۷ |
| وزن (kg) | ۷۳/۲۶±۱۲/۱۱ | ۶۸/۱۳±۱۷/۸۱ | ۰/۱۹۱ |
| دور کمر (cm) | ۹۲/۴۰± ۹/۴۰ | ۹۰/۹±۱۳/۸۱ | ۰/۶۲۳ |
| دور باسن (cm) | ۱/۰۲±۷/۶۷ | ۹۸/۷۲±۸/۶۴ | ۰/۱۳۵ |
| نسبت دور کمر به باسن | ۰/۹۰±۰/۰۵۰ | ۰/۹۱±۰/۱۰ | ۰/۳۶۳ |
| نمایه توده بدن ($kg/m^2$) | ۲۷/۰۶±۴/۲۷ | ۲۴/۵۱±۴/۴۰ | ۰/۴۷ |
| انسولین | ۷/۲۹±۲/۰۹ | ۷/۷۶±۱/۷۶ | ۰/۴۱۰ |
| گلوکز | ۵/۲۸±۰/۵۶ | ۵/۲۴±۰/۶۷ | ۰/۸۳۲ |
| HOMA-IR | ۱/۷۰±۰/۵۰ | ۱/۷۸±۰/۳۸ | ۰/۵۸۸ |
| HbA1C | ۵/۰۱۹±۰/۳۳ | ۴/۹۲±۰/۴۲ | ۰/۳۷ |
| کراتنین | ۰/۸۳±۰/۲۴ | ۰/۹۱±۰/۲۲ | ۰/۲۸ |
| اوره | ۲۹/۱۲±۱۰/۸۳ | ۳۴/۹۶±۱۰/۱۸ | ۰/۰۸۴ |
| اسید اوریک | ۴/۸۶±۱/۵۱ | ۴/۶۲±۲/۱۵ | ۰/۶۱ |
| کلسترول | ۴/۶۳±۱/۰۹ | ۴/۸۳±۰/۹۸ | ۰/۵۶ |
| تری‌گلیسرید | ۱/۶۴±۰/۴۵ | ۱/۶۹±۰/۴۰ | ۰/۷۱ |
| LDL-C | ۳/۰۳±۰/۸۰ | ۲/۹۵±۰/۷۲ | ۰/۷۵ |
| HDL-C | ۲/۹۷±۰/۶۷ | ۳/۱۴±۰/۸۸ | ۰/۴۲ |
| فشارخون سیستولیک | ۱۱/۸۸±۱/۰۷ | ۱۱/۳۶±۰/۸۰ | ۰/۱۱۷ |
| فشارخون دیاستولیک | ۷/۹۹±۰/۹۵ | ۸/۰۹±۰/۸۳ | ۰/۷۴ |

**جدول شماره ۴:** پارامترهای کلینیکی و بیوشیمیایی از ژنوتیپ rs ۵۲۱۹ در افراد دیابتی بر اساس مدل غالب

| ویژگی‌های افراد شرکت کننده | CC n=۱۴۶ | CT+TT n=۲۷ | سطح معنی داری |
|---|---|---|---|
| سن (سال) | ۵۵/۲۶±۱۱/۱۸ | ۵۳/۳۷±۱۰/۰۵ | ۰/۴۱۳ |
| وزن (kg) | ۷۳/۸۶±۱۲/۶۱ | ۷۲/۵۵±۲/۵۳ | ۰/۶۱۰ |
| دور کمر (cm) | ۹۷/۹۱±۱۰/۲۲ | ۹۶/۵۹±۹/۶۲ | ۰/۵۳۳ |
| دور باسن (cm) | ۱/۰۴±۹/۹۷ | ۱/۰۴۶±۸/۱ | ۰/۹۶۱ |
| نسبت دور کمر به باسن | ۰/۹۳±۰/۰۶۸ | ۰/۹۲±۰/۰۵۹ | ۰/۳۴ |
| نمایه توده بدن ($kg/m^2$) | ۲۹/۰۰±۵/۰۹ | ۲۷/۶۷±۳/۱۰ | ۰/۱۹۴ |
| انسولین | ۱۰/۱۳±۳/۴۹ | ۸/۶۶±۲/۵۸ | ۰/۰۳۹ |
| گلوکز | ۹/۱۶±۲/۸۷ | ۹/۲۵±۱/۹۲ | ۰/۸۷ |
| HOMA-IR | ۴/۰۶±۱/۸۳ | ۳/۵۲±۱/۲۶ | ۰/۱۴۹ |
| HbA1C | ۸/۱۵±۱/۷۷ | ۷/۹۵±۱/۳۲ | ۰/۵۶۷ |
| کراتنین | ۱/۰۸±۰/۳۱ | ۱/۰۷±۰/۳۸ | ۰/۸۰۸ |
| اوره | ۳۹/۸۲±۱۰/۷۳ | ۴۲/۰۰±۱۰/۷۹ | ۰/۳۳۴ |
| اسید اوریک | ۴/۴۸±۱/۳۸ | ۴/۷۶±۱/۳۳ | ۰/۳۳۲ |
| کلسترول | ۵/۰۸±۱/۰۱ | ۵/۳۵±۱/۲۳ | ۰/۲۲۰ |
| تری‌گلیسرید | ۲/۰۶±۰/۴۶ | ۲/۰۵۹±۰/۵۱۵ | ۰/۹۲۹ |
| LDL-C | ۳/۳۵±۰/۹۱ | ۳/۷۰±۰/۹۷ | ۰/۰۶۶ |
| HDL-C | ۰/۹۲±۰/۲۴ | ۰/۹۷±۰/۲۴ | ۰/۲۸۷ |
| فشارخون سیستولیک | ۱۳/۰۴±۱/۸۳ | ۱۳/۳۵±۱/۹۴ | ۰/۴۲۸ |
| فشارخون دیاستولیک | ۸/۴۱±۱/۰ | ۸/۶۸±۱/۷۴ | ۰/۳۲۹ |

همان‌طوری که در جدول ۳ نشان داده شده، ارتباط معنی‌داری بین پارامترهای کلینیکی و بیوشیمیایی با ژنوتیپ‌های CC و مجموع ژنوتیپ‌های TT و CT وجود ندارد.

همان‌طورکه نتایج جدول گویای آن است به‌جز انسولین تفاوت معنی‌داری بین هیچکدام از پارامترهای مورد بررسی با ژنوتیپ CC و مجموع ژنوتیپ‌های TT و CT در بیماران دیابتی دیده نشد.

## بحث

تحلیل آماری داده‌های مطالعه حاضر نشان داده است که ارتباط معناداری بین پلی مورفیسم E۲۳ K ژن kcnj۱۱ با بیماری دیابت نوع ۲، وجود دارد. همه مقادیرا برای سن وجنس ونمایه توده بدنی تعدیل شده‌اند. آنالیز داده‌ها نشان داد که فراوانی ژنوتیپ CC در گروه دیابتی ۸۴/۴ درصد و در گروه غیردیابتی ۹۳/۶ درصد می‌باشد. فراوانی ژنوتیپ CT (OR=۲/۷۷،CI%۹۵ :۱/۲۹-۵/۹۷) در بین گروه دیابتی ۱۴/۵ درصد و غیر دیابتی ۵/۸ درصد بود و فراوانی ژنوتیپ TT در بین گروه دیابتی ۱/۲ درصد و غیر دیابتی ۶ درصد بود. طبق این نتایج می‌توان گفت که وجود این پلی‌مورفیسم یک ریسک فاکتور برای بروز دیابت نوع ۲ می‌باشد. این داده‌ها با مطالعات قبلی که نقش این آلل را در بروز دیابت نوع ۲ نشان داده‌اند، همخوانی دارد(۶-۸).

تاکنون نقش بیش از ۲۰۰ ژن در ارتباط با دیابت نوع ۲ مشخص شده است. در برخی از مطالعات ارتباط برخی از پلی‌مورفیسم‌های ژن kcnj۱۱ با استعداد ابتلا به دیابت نوع ۲ در چندین جمعیت از جمله هند، اعراب تونسی و لبنانی، جمعیتی از چین، ترکیه و ژاپن نشان داده شده است(۷،۱۲-۹) که از این بین واریانت E ۲۳K در بیش‌تر جمعیت‌ها به طور مداوم در ارتباط با دیابت نوع ۲ بوده است(۱۳،۱۴). در مطالعه Boodram و همکاران در جمعیتی از هند ارتباط مثبتی بین پلی‌مورفیسم E۲۳ K ژن kcnj۱۱ با بیماری دیابت نوع ۲ مشاهده شد (۲/۸۱-۱/۱۴ :۹۵ % CI،p=۰/۰۰۹)، هرچند اشاره شده که به مطالعات وسیع‌تری برای تعیین سهم هرکدام از این واریانت‌ها در دیابت نیاز است(۹). در مطالعه متاآنالیزی که در جمعیت شرق اسیا با هدف تاثیر ژنتیکی ژن مورد نظر در دیابت نوع ۲ انجام شد، این پلی‌مورفیسم ارتباط زیادی با دیابت نوع ۲ در این جمعیت‌ها داشت و ارتباط اللی و ژنتیکی برای واریانت E۲۳K معنی دار بود و انجام آنالیزهای متاانالیز تجمعی بر حسب سال انتشار و تعداد نمونه و بررسی تورش انتشار، اغراق در بیان مطالعات اولیه را خاطر نشان شد(۱۵). در مطالعه‌ای دیگر ارتباط بین پلی مورفیسم E۲۳K ژن kcnj۱۱ و ریسک ابتلا به دیابت نوع ۲ در بین ۲۵۰ فرد دیابتی از اعراب لبنانی و تونسی بررسی شده است. در این مطالعه دیده شد که بین ابتلا به دیابت نوع ۲، در جمعیت تونسی ارتباط مثبت و در جمعیت لبنانی ارتباطی مشاهده نشد(۱۰). در مطالعه ای که در ژاپن انجام شد ۳۱ پلی مورفیسم بر روی این ژن مورد مطالعه قرار گرفت و بین ابتلا به دیابت نوع ۲ در لوکوس‌های ژنی kcnj۱۱ از جمله واریانت مذکور ارتباط مثبتی مشاهده شد و علاوه بر این نشان داده شد که این واریانت با افزایش فشارخون در این جمعیت همراه بوده است(۷). برای بررسی اثر پلی‌مورفیسم E۲۳K در kcnj۱۱ مطالعه‌ای در چین جنوبی نیز انجام شده است. این مطالعه دلایلی را برای حمایت از نقش این پلی‌مورفیسم در مردم چین ارائه کرده است و این پلی‌مورفیسم در جمعیت مذکور نقش افزایشی درخطر ابتلا به دیابت دارد(۸). در مطالعه Park و همکاران از کره نیز اثر این ژن در گروهی که مبتلا به هاپیوانسولینمی مادرزادی بودند، بررسی شد و نتایج مشابه مطالعات قبلی مشاهده شد(۱۶).

در مطالعه‌ای ارتباط این ژن با گسترش دیابت نوع ۲ در افراد چاق در شمال ایران بررسی شد. نتیجه این پژوهش نشان داد که واریانت E۲۳K با پیشرفت دیابت نوع ۲ در افراد چاق استان گیلان در هر مدل ژنتیکی مورد آزمایش (مغلوب، مدل‌های غالب و یا همکاری

غالب) ارتباط ندارد گرچه می‌تواند در پیشرفت چاقی نقش داشته باشد و ارتباط معناداری بین دیابت نوع ۲ و چاقی و ژنوتیپ E۲۳K در مدل مغلوب (p=۰/۰۳) مشاهده شد(۱۷). در مطالعه‌ای که در ترکیه بر روی ۱۶۹ بیمار مبتلا به دیابت نوع دو و ۱۱۶ فرد سالم انجام شد، ارتباط مثبتی بین وجود این پلی‌مورفیسم و کاهش در میزان انسولین پلاسما در افراد مبتلا به دیابت نوع دو مشاهده شد. بنابراین E۲۳K سبب کاهش ترشح انسولین در جمعیت مذکور می‌شد(۱۲) که در مقایسه با آنالیز فاکتورهای بیوشیمیایی با مطالعه ما مطابقت دارد.

تحلیل کلی از بررسی پلی‌مورفیسم E۲۳K از ژن kcnj۱۱ در مطالعه انجام شده نشان می‌دهد که فراوانی ژنوتیپ TT در جمعیت مورد مطالعه بسیار پایین می‌باشد ولی ارتباط معناداری بین این پلی مورفیسم با بیماری نوع دیابت نوع ۲ و مقاومت به انسولین و فاکتورهای خطر وابسته وجود دارد.

بنابراین می‌توان گفت که پلی مورفیسم E۲۳K از ژن kcnj۱۱ با بروز دیابت نوع ۲ و فاکتور خطر وابسته در جامعه کرد در استان ایلام مؤثر می‌باشد. احتمالاً می‌توان با شناسایی افراد نرمال حامل از طریق برنامه‌های پیشگیری‌کننده از بروز دیابت نوع ۲ در این افراد جلوگیری کرد.

## References

1. Tung TH, Chen SJ, Lee FL, Liu JH, Lin CH, Chou P. A community-base study for the utility values associated with diabetic retinopathy among type2 diabetic in kinmen, Taiwan. Diabetes Res Clin Pract 2005; 68(3): 265-273.
2. Boodram LG, Miyake K, Hayes MG, Bell GI, Cockburn BN. Association of the KCNJ11 Variant E23K with Type 2 Diabetes in Indo-Trinidadians. West Indian Med J 2011; 60(6): 604-607.
3. Remedi MS, Nichols CG. Hyperinsulinism and diabetes: genetic dissection of beta cell metabolism-excitation coupling in mice. Cell Metab 2009; 10(6): 442-453.
4. Inagaki N, Gonoi T, Clement JP, Namba N, Inazawa J, Gonzalez G, et al. Reconstitution of IKATP an inward rectifier subunit plus the sulfonylurea receptor. Science 1995; 270(5239): 1166-1170.
5. Hamming KS, Soliman D, Matemisz LC, Niazi O, Lang Y, Gloyn AL, et al. Coexpression of the Type 2 Diabetes Susceptibility gene variants KCNJ11 E23K and ABCC8 S1369A alter the ATP and Sulfonylurea Sensitivities of the ATP-Sensitive K(+) Channel. Diabetes 2009; 58(10): 2419-2424.
6. Bennett K, James C, Hussain K. 2010. Pancreatic β-cell KATP channels: Hypoglycaemia and hyperglycaemia. Rev Endocr Metab Disord 2010; 11(3): 157-163.
7. Sakamoto Y, Inoue H, Keshavarz P, Miyawaki K, Yamaguchi Y, Moritani M, et al. SNPs in the KCNJ11-ABCC8 gene locus are associated with type 2 diabetes and blood pressure levels in the Japanese population. J Hum Genet 52(10): 781-793.
8. Cheung CY, Tso AW, Cheung BM, Xu A, Fong CH, Ong KL, et al. The KCNJ11 E23K Polymorphism and Progression of Glycaemia in Southern Chinese: a long-term prospective study. Plos One 2011; 6(12): e28598.
9. Boodram LG, Miyake K, Hayes MG, Bell GI, Cockburn BN. Association of the KCNJ11 Variant E23K with type 2 diabetes in Indo-Trinidadians. West Indian Med J 2011; 60(6): 604-607.

10. Bennett K, James C, Hussain K. Pancreatic β-cell KATP channels: Hypoglycaemia and hyperglycaemia. Rev Endocr Metab Disord 2010; 11(3): 157-163.
11. Koo BK, Cho YM, Park BL, Cheong HS, Shin HD, Jang HC, et al. Polymorphisms of KCNJ11 (Kir6.2 gene) are associated with Type 2 diabetes and hypertension in the Korean population. Diabet Med 2006; 24 (2): 178-186.
12. Gonen MS, Arikoglu H, Erkoc Kaya D, Ozdemir H, Ipekci SH, Arslan A, et al. Effects of single nucleotide polymorphisms in K(ATP) channel genes on type 2 diabetes in a Turkish population. Arch Med Res 2012; 43(4): 317-323.
13. Florez JC, Jablonski KA, Kahn SE, Franks PW, Dabelea D, Hamman RF, et al. Type 2 diabetes–associated missense polymorphisms KCNJ11E23K and ABCC8 A1369S Influence progression to diabetes and response to interventions in the Diabetes Prevention Program. Diabetes 2007; 56(2): 531-536.
14. Lang VY, Fatehi M, Light PE. Pharmacogenomic analysis of ATP-sensitive potassium channels coexpressing the common type 2 diabetes risk variants E23K and S1369A. Pharmacogenet Genomics 2012; 22(3): 206-214.
15. Yang L, Zhou X, Luo Y, Sun X, Tang Y, Guo W, et al. Association between KCNJ11 gene polymorphisms and risk of type 2 diabetes mellitus in East Asian populations: a meta-analysis in 42,573 individuals. Mol Biol Rep 2012; 39(1): 645-659.
16. Park SE, Flanagan SE, Hussain K, Ellard S, Shin Ch, Yang SW. Characterization of ABCC8 and KCNJ11 gene mutations and phenotypes in Korean patients with congenital hyperinsulinism. Eur J Endocrinol 2011; 164(6): 919-926.
17. Keshavarz P, Habibipour R, Ghasemi M, Kazemnezhad E, Alizadeh M, Omami MH. Lack of genetic susceptibility of KCNJ11 E23K polymorphism with risk of type 2 diabetes in an Iranian population. Endocr Res 2014; 39(3): 120-125.