مجله‌ی غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
دوره‌ی سیزدهم، ضمیمه‌ی شماره‌ی ۶، صفحه‌های ۶۸۰ ـ ۶۷۳ (اسفند ۱۳۹۰)

مقاله‌ی پژوهشی

پیوستگی واریانت E23K ژن KCNJ11 با گسترش دیابت نوع ۲ در افراد چاق شمال ایران

ملکه قاسمی[۱]، راضیه حبیبی پور[۲]، دکتر پروانه کشاورز کیاسرایی[۳]

۱) گروه ژنتیک، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات، ۲) گروه بیوشیمی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی گیلان،۳) مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، گروه ژنتیک، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان،
نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول: گیلان، رشت، کیلومتر ۱۰ جاده تهران، مجتمع دانشگاهی گیلان، دانشکده‌ی پزشکی، گروه ژنتیک، کد پستی ۱۳۷۶۹-۴۱۹۹۶، صندوق پستی ۳۳۶۳، دکتر پروانه کشاورز کیاسرایی؛ e-mail: parvan1372@yahoo.com

چکیده

مقدمه: چاقی یک ناهنجاری چند عاملی بوده و مهم‌ترین فاکتور خطرساز بیماری دیابت نوع ۲(T2D) محسوب می‌شود. در افراد چاق واریانت E23K ژن KCNJ11 به‌واسطه‌ی اسیل کوآ زنجیره‌ی بلند تجمع یافته در سلول‌های بتا پانکراس سبب کمبود ترشح انسولین شده، و ابتلا به دیابت نوع ۲ را تسهیل می‌نماید. چندین پژوهش، ارتباط واریانت E23K با T2D و چاقی در جمعیت‌های مختلف را گزارش کرده‌اند. هدف پژوهش حاضر، احراز پیوستگی احتمالی واریانت E23K با پیشرفت دیابت نوع ۲ در افراد چاق استان گیلان بود. مواد و روش‌ها: پژوهش به روش دو مطالعه‌ی مورد ـ شاهدی در دو گروه، با شرکت ۲۱۰ نفر فرد چاق دیابتی و غیردیابتی در کنار ۵۳۶ فرد غیر چاق دیابتی و غیردیابتی صورت گرفت. ژنوتیپ نمونه‌ها به وسیله‌ی تکنولوژی مولکولی MGB TaqMan assay در دستگاه ABI 7300 تعیین گردید. یافته‌ها: در گروه‌های مورد پژوهش، هیچ‌گونه تفاوت معنی‌دار نسبت به فراوانی آللی در بین افراد چاق دیابتی و غیردیابتی، و هم‌چنین افراد غیرچاق دیابتی و غیردیابتی مشاهده نگردید. اما با مقایسه‌ی فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف، تفاوت معنی‌داری در مدل وراثتی مغلوب، بین افراد چاق دیابتی و غیردیابتی پدیدار گشت که در افراد غیرچاق دیابتی و غیردیابتی دیده نشد [P=۰/۰۲۴، (۱۹/۹۶– ۰/۹۸) = ضریب اطمینان ۹۵٪، ۴/۴=نسبت خطر]. نتیجه‌گیری: پژوهش حاضر نشان داد واریانت E23K با پیشرفت دیابت نوع ۲ در افراد چاق استان گیلان ارتباط دارد. آگاهی هم‌زمان از مقاومت انسولینی افراد هنگام بررسی مشابه با حجم نمونه‌ی بالاتر توصیه می‌گردد.

واژگان کلیدی: دیابت نوع ۲، چاقی، پلی‌مورفیسم، E23K، مطالعه‌ی پیوستگی، ژن KCNJ11

دریافت مقاله: ۹۰/۵/۲۲ـ دریافت اصلاحیه: ۹۰/۷/۲۳ ـ پذیرش مقاله: ۹۰/۸/۲

مقدمه

دیابت نوع ۲ نتیجه‌ی دو نقص پاتوفیزیولوژی شامل نقص در عملکرد سلول‌های بتا پانکراس و مقاومت انسولینی در بافت‌های عضله، چربی و کبد است که هر یک به دلایل ژنتیکی و محیطی متعدد نظیر نژاد، سن، چاقی و عوامل محیطی قبل و بعد از تولد ایجاد می‌شوند.[۱] از بین عوامل یاد شده، چاقی مسبب بروز بسیاری از بیماری‌های شایع مانند سرطان، بیماری‌های عروق کرونری و غیره بوده، به عنوان مهم‌ترین فاکتور خطرساز دخیل در بروز دیابت نوع ۲ در نظر گرفته می‌شود، چنان‌چه بیشتر افراد دیابتی چاق هستند.[۲] چاقی و دیابت نوع ۲ دو بیماری پیچیده‌ی متابولیکی و چند عاملی هستند که نتیجه‌ی اثر کوچک و افزایشی ژن‌های مختلف بدن و هم‌چنین تعامل آن‌ها با فاکتورهای محیطی می‌باشند.[۳]

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-12-19]

طی تلاش‌های گسترده در طول چند دهه‌ی اخیر، ژن‌های مستعد زیادی که در بروز دیابت نوع ۲ و چاقی نقش کلیدی داشتند، شناسایی گردیدند. در میان این ژن‌ها، ژن KCNJ11 که زیرواحد Kir6.2 کانال پتاسیمی حساس به ATP (KATP) را رمزدهی می‌کند، به دلیل نقش اساسی‌اش در ترشح انسولین توجه زیادی را به خود جلب نموده است.[۴] این کانال هم‌چنین از زیرواحد دومی به نام SUR1 که توسط ژن ABCC8 رمزدهی می‌شود، ساخته شده است. هر دو ژن KCNJ11 و ABCC8 در مجاورت هم روی کروموزوم ۱۵.۱ ۱۱p قرار گرفته‌اند و تترامر Kir6.2 به‌وسیله‌ی تترامر SUR1 احاطه شده است.[۵] افراد چاق و مبتلایان به دیابت نوع ۲ سطح گردش اسید چرب آزاد بالایی دارند. این وضعیت موجب تجمع آسیل کوآنزیم A زنجیره‌ی بلند در سلول‌های بتا شده و با کاهش دادن حساسیت به ATP در کانال KATP وابسته به گلوکز و ادامه‌ی باز بودن آن، فعالیت الکتریکی و در نهایت ترشح انسولین را کاهش می‌دهد. به این ترتیب، چاقی با کاهش ترشح انسولین از سلول بتا و مقاومت انسولینی موجب پیشرفت دیابت نوع ۲ می‌گردد.[۶]

پلی‌مورفیسم E23K (SNP ID; rs5219)، یکی از مورد توجه‌ترین SNPهای ژن KCNJ11 است که در نتیجه‌ی یک جهش بد معنی با جانشینی نوکلئوتیدی (GAG→AAG) ایجاد شده و سبب جایگزینی اسید آمینه لیزین به اسید گلوتامیک (Glu23Lys) در N-ترمینال زیرواحد kir6.2 می‌گردد.[۷] در بررسی‌های in-vitro مشخص شد که نقش پلی‌مورفیسم E23K در ایجاد بیماری دیابت نوع ۲، کاهش حساسیت کانال به مهار - ATP4، ادامه‌ی باز بودن آن و کاهش ترشح انسولین است.[۸] به طوری‌که عملکرد سلول‌های β در افراد با ژنوتیپ K/K در مقایسه با ژنوتیپ E/K و E/E، با کاهش ۳۰-۲۰٪ مواجه است.[۹] برخلاف وجود گزارشاتی پیرامون عدم ارتباط ژنتیکی این واریانت با بروز دیابت نوع ۲،[۱۰،۱۱] پژوهش‌های گسترده ای مبنی بر ارتباط قوی آن با بروز بیماری گزارش شد که با چند بررسی GWA (Genome wide association) تایید گردیدند.[۱۲-۱۴] در متاآنالیز آماری، پلی‌مورفیسم E23K نسبت به سایر واریانت‌های ژن KCNJ11 پیوستگی قوی‌تری را با بروز دیابت نوع ۲ نشان داده است. هم‌چنین، مشاهده گردیده که این پلی‌مورفیسم با افزایش نمایه‌ی توده‌ی بدن (BMI)[i] ارتباط دارد.[۱۵] اثر تنظیمی واریانت E23K بر حساسیت انسولینی در حضور LC-CoA نیز در in-vitro مورد بررسی قرار گرفت. در بررسی ژان وان و همکاران، پس از ترانسفکت کردن ژن KCNJ11 واجد جهش E23K به سلول‌های ماهیچه‌ایی L6 در محیط کشت، مشاهد گردید که مسیر پیام انسولینی در غلظت‌های فیزیولوژیکی طبیعی LC-CoA دچار افت فعالیت از راه افزایش عملکرد تنظیم کننده‌های منفی دخیل در آن می‌شود، تا حساسیت انسولینی دچار کاهش گردد.[۱۶] از طرفی، در افراد چاق مانند افراد مبتلا به دیابت نوع ۲، تجمع LC-COAs افزایش می‌یابد و به دلیل این‌که فعالیت کانال KATP در میان واجدین ژنوتیپ K/K بیشتر است، در نتیجه افراد چاق واجد آلل K نسبت به افراد هم عرض خود با وزن طبیعی، از دو مسیر متفاوت مواجه با کاهش انسولین و به تبع آن افزایش قند خون می‌شوند و از استعداد بالاتری در ابتلا به دیابت نوع ۲ برخوردار هستند.[۱۷] در پژوهشی ارتباط چندین پلی‌مورفیسم ژن‌های دخیل در ایجاد دیابت نوع ۲ به‌ویژه پلی‌مورفیسم E23K ژن KCN J11 با چاقی مورد بررسی قرار گرفتند.[۱۸] اما در ایران تنها مطالعه‌ی صورت گرفته روی واریانت E23K، بررسی پیوستگی واریانت با بیماری کرونری قلب (۷۰ فرد بیمار و ۵۰ فرد سالم) بوده که آن هم تفاوت معنی‌داری را آشکار نکرده است (P=۰/۱۴ ۱/۵=نسبت شانس).[۱۹] بنابراین با توجه به فقدان پژوهشی در زمینه‌ی ارتباط این پلی‌مورفیسم با سایر بیماری‌های پیچیده مانند چاقی و دیابت در ایران، مناسب دیدیم به بررسی پیوستگی آن با افزایش استعداد ابتلای به دیابت نوع ۲ در افراد چاق پرداخته شد. در حقیقت، پژوهش حاضر، اولین بررسی در این زمینه، با این حجم از نمونه و به کارگیری تکنیک قوی Allelic Discrimination در کشور بود.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع مورد - شاهدی صورت گرفت. بیماران دیابتی نوع ۲ مراجعه‌کننده از سراسر گیلان به مرکز کنترل دیابت بیمارستان آموزشی رازی شهرستان رشت طی سال ۱۳۸۷ و ۱۳۸۸ به روش آسان و در دسترس با مصاحبه، اندازه‌گیری و سپس دریافت خون وارد پژوهش شدند. تشخیص بیماری دیابتی نوع ۲، براساس معیارهای

i - Body mass index

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-12-19]

سازمان بهداشت جهانی (WHO)[i] سال ۱۹۸۵ و یا استفاده بیماران از داروهای ضد دیابتی در درمان بود. گروه کنترل از میان مراجعه‌کنندگان به آزمایشگاه مراکز تشخیص طبی به منظور بررسی سالیانه، پس از احراز شرایط لازم پژوهش شامل میزان گلوکز ناشتای خون پایین‌تر از ۱۰۰ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر، فقدان وجود سابقه‌ی بیماری دیابت در خویشاوندان درجه‌ی یک و سن بالاتر از ۴۰ سال انتخاب گردیدند. تمام افراد (بیمار و کنترل) قبل از مصاحبه، اندازه‌گیری فشار خون، قد و وزن و در پایان خون‌گیری نسبت به محتوای پژوهش توجیه شده بودند، و براساس آیین‌نامه‌ی مصوب کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی گیلان موافقت خود را با انجام پژوهش به صورت کتبی اعلام نمودند. آزمودنی‌ها، همگی از نژاد گیل و غیر خویشاوند بودند. از تمام آزمودنی‌ها، مقدار ۵ میلی‌لیتر خون گرفته شد. مقدار ۳ میلی لیتر از خون به منظور انجام آزمایش بیوشیمیایی شامل سطح گلوکز ناشتا (هر دو گروه بیمار و کنترل) و هموگلوبین A1c (فقط بیماران) کنار گذاشته شد. باقیمانده‌ی خون در لوله‌ی حاوی ماده ضد انعقاد (۱/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) EDTA برای استخراج DNA جمع‌آوری گردید. DNA ژنومی نمونه‌ها از لکوسیت‌های خون تام به‌وسیله‌ی تکنیک استاندارد salting out استخراج شد.[۲۰] کیفیت DNAهای استخراج شده با دو روش الکتروفورز و خواندن OD260/280 توسط دستگاه نانودراپ (ND-2000) مورد بررسی قرار گرفت. سرانجام پس از رقیق‌سازی DNA استخراج شده به غلظت نهایی ۲۰-۱۰ نانوگرم در میلی‌لیتر، نمونه‌ها تعیین ژنوتیپ شدند. براساس نمایه‌ی توده‌ی بدنی آزمودنی‌ها که شامل ۳۵۸ فرد بیمار دیابتی نوع ۲ تایید شده و ۳۸۸ فرد سالم می‌شدند، در نهایت دو دسته از افراد؛ الف) با BMI≥۳۰ به عنوان چاق و ب) با BMI<۳۰ به عنوان غیرچاق، مجزا شدند. افراد چاق و افراد غیر چاق که هرکدام از نظر ابتلای به دیابت نوع ۲ به دو گروه دیابتی و غیر دیابتی تقسیم شده بودند، در دو پژوهش مستقل مورد ـ شاهد از نظر پیوستگی آللی مورد بررسی قرار گرفتند. ترکیب نهایی به این قرار بود: گروه چاق شامل ۲۱۰ فرد (۱۳۳ دیابتی، ۷۷ غیر دیابتی) و گروه غیرچاق شامل ۵۳۶ فرد (۲۲۵ دیابتی، ۳۱۱ غیر دیابتی). در هر دو پژوهش، بیماران دیابتی نوع ۲ به عنوان مورد و افراد غیردیابتی به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند.

ژنوتیپ نمونه‌ها از نظر واریانت E23K، با استفاده از روش ′۵- نوکلئاز TaqMan با ویژگی‌های پروب‌های MGB تعیین گردید. توالی پروب استاندارد MGB (Minor Grove (Binder) نشاندار شده با دو مارکر فلورسانس VIC, FAM و جفت پرایمرهای مربوط به پلی‌مورفیسم E23K توسط Applied Biosystems طراحی شدند (Assay on demand). ترکیب واکنش که حاوی DNA ژنومی، پروب و پرایمر، آب دیونیزه و بافر TaqMan Universal PCR Master Mix No AmpErase UNG بود، در پلیت ۹۶ خانه‌ای براساس برنامه‌ی شرکت ABI در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر آماده شد. شرایط PCR به ترتیب زیر بهینه گردید: مرحله‌ی اول؛ دناتوراسیون اولیه با دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه و مرحله‌ی دوم شامل ۴۵ سیکل تکرار به قرار؛ دناتوراسیون با دمای ۹۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، و به دنبال آن Annealing و Extension به مدت ۱ دقیقه در دمای ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد. هر پلیت ۹۶ خانه به صورت ۹۴ چاهک مختص DNA با ژنوتیپ ناشناخته (undetermined) و ۲ چاهک به منظور کنترل منفی واکنش که فاقد DNA بود [no template control(NTC)]، چیدمان گردید. بعد از اتمام PCR شدت فلورسانس مارکرها و سپس ژنوتیپ نمونه‌ها در دستگاه ABI 7300 Fast Real- Time PCR توسط نرم‌افزار SDSv.1. 4 بررسی و تعیین گردید. حدود ۱۰٪ از کل نمونه‌ها و تمام نمونه‌های مشکوک از نظر درستی ژنوتیپ دوباره آزمایش (duplicated) و ۱۰۰٪ با نتیجه‌ی ژنوتیپ قبلی همسویی داشتند.

مقایسه‌ی فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی واریانت E23K در گروه‌های مورد و شاهد، و هم‌چنین تجزیه و تحلیل مدل‌های وراثتی غالب، هم غالب و مغلوب، با استفاده از تست $\chi 2$ پیرسون توسط نرم‌افزار SNPAlyze pro ، ویرایش ۸ مورد بررسی قرار گرفت. نسبت شانس(OR) با فاصله‌ی اطمینان ۹۵٪ و آزمون انحراف از معادله‌ی هاردی واینبرگ(HWE) با استفاده از نرم‌افزار تحت وب http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl، با بکارگیری آزمون $\chi 2$ goodness-of-fit مورد ارزیابی قرار گرفت.

سایر تجزیه و تحلیل‌های آماری به منظور ارزیابی تفاوت شاخص‌های کلینیکی مانند سن، سطح گلوکز ناشتا، فشار

i - World health organization

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-12-19]

سیستولی و دیاستولی، و سطح HbA1c بین دو گروه بیمار و کنترل از آزمون تی مستقل در برنامه SPSS نسخه‌ی ۱۶ انجام شدند. میزان معنی‌دار بودن آزمون‌ها ۰/۰۵ یا کمتر از آن (P≤۰/۰۵) بود. از مدل رگرسیون لجستیک با توجه به سن و جنس، برای برآورد نسبت شانس همسان شده تک تک متغیرهای یاد شده استفاده گردید. قدرت آماری مطالعه (POWER) با استفاده از برنامه‌ی تحت وب PS (power and sample size) محاسبه شد. پژوهش حاضر، با حجم نمونه‌ی استفاده شده در آن، برای تعیین پیوستگی پلی‌مورفیسم با فراوانی آللی بیشتر از ۱۰٪، ۱/۵= نسبت شانس و P=۰/۰۵ دارای قدرت آماری بیش از ۹۰٪ بود.

یافته‌ها

در پژوهش حاضر، ۲۱۰ فرد مبتلای به چاقی (۱۳۳ دیابتی، ۷۷ غیردیابتی) و ۵۳۶ فرد غیر چاق (۲۲۵ دیابتی، ۳۱۱ غیردیابتی) در دو مطالعه‌ی مستقل مورد ـ شاهدی از نظر پیوستگی آللی با پیشرفت دیابت مورد بررسی قرار گرفتند. هر دو گروه مورد پژوهش از تعادل هاردی ـ واینبرگ برخوردار بودند. میانگین سنی افراد چاق دیابتی (۵۱/۷±۸/۸) و غیر دیابتی (۵۵/۳±۱۱)، افراد غیر چاق دیابتی (۵۶/۷±۱۲/۶) و غیر دیابتی (۵۳/۰۷±۹/۳) بود. میانگین سنی افراد از تفاوت معنی‌داری در گروه‌ها برخوردار بود (P<۰/۰۰۰۱). میانگین سن بروز دیابت در افراد چاق (۴۴/۳±۱۰/۵) و غیر چاق (۴۵/۸۶±۱۵/۴۶) محاسبه شد. با توجه به این‌که شرط انتخاب افراد کنترل، غیر مبتلایان با قند ناشتای زیر ۱۰۰ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر بود، سن ۴۰ سال را به عنوان مبنا قرار داده و درصد افراد چاقی که در سن پایین‌تر از ۴۰ سال مبتلا به دیابت شده بودند، نسبت به درصد افراد غیر چاق به مراتب بیشتر بود (به ترتیب ۴۲/۲٪ و ۲۸/۹٪). در میان افراد چاق، تعداد زنان به طور چشمگیری بالاتر بود (بیش از ۸۰٪) و فراوانی زنان چاق دیابتی به طور معنی‌داری بیشتر از زنان چاق غیر دیابتی مشاهده گردید. در هر دو گروه در صد بالایی از بیماران دارای سابقه‌ی خانوادگی مثبت (خویشاوندان درجه‌ی یک مبتلا) بودند (بیشتر از ۶۴٪). ویژگی‌های بالینی گروه‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- ویژگی‌های بالینی افراد مورد پژوهش

	چاق (BMI≥۳۰)		غیرچاق (BMI<۳۰)	
	دیابتی	غیر دیابتی	دیابتی	غیر دیابتی
تعداد (مرد/زن)	۱۳۳(۱۱۱/۲۲)	۷۷(۶۰/۱۷)	۳۱۱(۱۶۵/۱۴۶)	۲۲۵(۱۵۰/۷۵)
سن (سال)	۵۱/۷±۸/۸۵*	۵۵/۳±۱۱	۵۶/۷±۱۲/۶	۵۳/۰۷±۹/۳
میزان گلوکز ناشتا (میلی‌گرم بر صد میلی‌لیتر)	۱۵۱/۰۳±۶۵*	۹۴/۲±۶	۱۴۹/۱۷±۶۵	۹۱/۹±۶
HbA1C (درصد)	۷/۴۷±۱/۶	-	۷/۵±۱/۸	-
فشار خون سیستولی (میلی‌متر جیوه)	۱۲/۵±۱/۶	۱۲/۷±۱/۷۳	۱۲/۴±۱/۷	۱۲/۵±۱/۵
فشار خون دیاستولی (میلی‌متر جیوه)	۷/۶±۰/۹	۸±۱	۷/۷±۰/۹	۷/۶±۰/۹
سن بروز دیابت (سال)	۴۴/۳±۱۰/۵	-	۴۵/۸۶±۱۵/۴۶	-
سابقه‌ی خویشاوندی مثبت (درصد خویشاوند درجه ۱)	۹۰(۶۸/۷) (۱۳۱=تعداد)	-	۱۴۱(۶۴/۱) (۲۲۰=تعداد)	-

* اعداد به صورت میانگین ± انحراف معیار و درصد بیان شده‌اند.

وضعیت آزمودنی‌ها از نظر پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی E23K پس از تعیین ژنوتیپ به قرار: فراوانی آلل K در افراد دیابتی و غیردیابتی چاق، به ترتیب ۳۴/۶٪ در مقابل ۲۷/۳٪ (جدول ۲) و در دسته‌های متناظر از گروه غیر چاق، به ترتیب ۳۷/۳٪ در مقابل ۳۷/۹٪ (جدول ۳) بود که با مقایسه‌ی آن‌ها، ارتباط معنی‌داری کشف نشد (P=۰/۱۲: گروه چاق) و (P=۰/۸۴: گروه غیر چاق). در بررسی وضعیت گروه‌ها از نظر ژنوتیپ ریسکی KK، فراوانی ۱۰/۵ ٪ در مقابل ۲/۶٪ به ترتیب برای افراد دیابتی و غیر دیابتی گروه چاق (جدول ۲) و فراوانی ۱۵/۱٪ و ۱۳/۲٪به ترتیب در افراد غیر چاق دیابتی و غیردیابتی به دست آمد (جدول ۳)، که با مقایسه‌ی فراوانی ژنوتیپی در دو گروه، تنها افراد دیابتی و غیردیابتی گروه

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-12-19]

چاق تفاوت معنی‌داری را نشان دادند [P=۰/۰۳۷، (۲۱/۹۵-۱/۰۱) = ضریب اطمینان ۹۵٪، ۴/۷=نسبت شانس]. در این حال با محاسبه‌ی مدل‌های مختلف وراثتی (غالب، مغلوب، هم غالب) نسبت به ژنوتیپ‌های واریانت E23K در افراد چاق دیابتی و غیردیابتی، پیوستگی معنی‌داری بین مدل وراثتی مغلوب با پیشرفت دیابت در افراد چاق مشاهده شد [P=۰/۰۲۴ (۱۹/۹۶-۰/۹۸)= ضریب اطمینان ۹۵٪ ۴/۴۱=نسبت شانس] (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه‌ی فراوانی آللی و ژنوتیپی واریانت* E23K KCNJ11 در افراد چاق دیابتی و غیردیابتی

		افراد چاق (BMI>۳۰)		مقدار† P	(ضریب اطمینان ۹۵٪) نسبت شانس
		دیابتی (درصد)	غیر دیابتی (درصد)		
آلل	E	۱۷۴(۶۵/۴)‡	۱۱۲(۷۲/۷)	۰/۱۲	۱/۴ (۰/۹۱ – ۲/۱۸)
	K	۹۲(۳۴/۶)	۴۲ (۲۷/۳)		
ژنوتیپ	EE	۵۵(۴۱/۴)	۳۷(۴۸/۱)		رفرنس
	EK	۶۴(۴۸/۱)	۳۸(۴۹/۳)	۰/۶۷	۱/۱۳(۰/۶۴ – ۲/۰۲)
	KK	۱۴(۱۰/۵)	۲(۲/۶)	۰/۰۳۷	۴/۷ (۱/۰۱ – ۲۱/۹)
مدل وراثتی					
هم غالب	(KK vs. EK)			۰/۰۹۷	۱/۴۸(۰/۹۳-۲/۳۶)
غالب	(KK/EK vs. EE)			†۰/۳۵	۱/۳۱(۰/۷۵-۲/۳۱)
نهفته	(KK vs. EK/EE)			۰/۰۲۴	۴/۴۱(۰/۹۸-۱۹/۹۶)

* مقایسه‌ی فراوانی آللی و ژنوتیپی بین دو گروه با تست $\chi 2$ محاسبه گردید. † مقدار P<۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد. ‡ اعداد با تعداد و (درصد) نشان داده شده‌اند.

جدول۳- مقایسه‌ی فراوانی آللی* و ژنوتیپی واریانت E23K KCNJ11 در افراد غیر چاق دیابتی و غیر دیابتی

		افراد غیر چاق (BMI<۳۰)		مقدار† P	(ضریب اطمینان ۹۵٪) نسبت شانس
		دیابتی (درصد)	غیر دیابتی (درصد)		
آلل	E	۲۸۲(۶۲/۷)	۳۸۶(۶۲/۱)	۰/۸۴	۰/۹۷(۰/۷۶ – ۱/۲۵)
	K	۱۶۸(۳۷/۳)	۲۳۶ (۳۷/۹)		
ژنوتیپ	EE	۸۳(۳۶/۹)	۱۲۸(۴۱/۱)		رفرنس
	EK	۱۰۸(۴۸)	۱۴۲(۴۵/۷)	۰/۵۱	۱/۰۷(۰/۷۴ –۱/۵۵)
	KK	۳۴(۱۵/۱)	۴۱(۱۳/۲)	۰/۶۸	۰/۸۹(۰/۵۲ – ۱/۵۳)
مدل وراثتی					
هم غالب	(KK vs. EK)			۰/۸۴	۰/۹۷(۰/۷۶– ۱/۲۵)
غالب	(KK/EK vs. EE)			۰/۸۹	۱/۰۲(۰/۷۲-۱/۴۶)
نهفته	(KK vs. EK/EE)			۰/۵۶	۰/۸۶(۰/۵۳-۱/۴۲)

* مقایسه‌ی فراوانی آللی و ژنوتیپی بین دو گروه با تست $\chi 2$ محاسبه گردید. † مقدار P<۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد. ‡ اعداد با تعداد و درصد نشان داده شده‌اند.

پس از رفرانس قرار دادن ژنوتیپ EE در رگرسیون لجستیک و تعدیل ژنوتیپ KK با سن و جنس تفاوت معنی‌دارتر گردید [P=۰/۰۳۲ (۲۶/۸-۱/۱۶) = ضریب اطمینان ۹۵٪، ۵/۶=نسبت شانس]. علاوه بر این به نظر می‌رسد هیچ‌یک از مدل‌های وراثتی مختلف (غالب، مغلوب و هم

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-12-19]

غالب)، در افراد با BMI<۳۰ (غیرچاق) و پیشرفت دیابت پیوستگی نداشته باشند (جدول ۳).

بحث

یافته‌های پژوهش اخیر پیرامون ارتباط پلی‌مورفیسم E23K ژن KCNJ11 با بروز دیابت نوع ۲ در افراد چاق، نتیجه‌ی بررسی ژنوتیپی (۲۱۰) فرد چاق (دیابتی و غیردیابتی) و (۵۳۶) فرد غیر چاق (دیابتی و غیر دیابتی) در استان گیلان بود. در مقایسه‌ی فراوانی ژنوتیپی گروه‌ها، پیوستگی معنی‌داری بین مدل وراثتی مغلوب پلی‌مورفیسم E23K با گسترش دیابت نوع ۲ در افراد با BMI>۳۰ به دست آمد (P=۰/۰۲۴، ۴/۴۱=نسبت شانس). این یافته می‌تواند توجیه مضاعفی در رابطه با درستی وجود موضوع چالش‌زای پژوهش‌های مختلف در برهم‌کنش و پیوستگی تعدادی از واریانت ژن‌های دخیل در دیابت نوع ۲ از جمله E23K و مشکل چاقی باشد.[۱۸،۲۱] همان‌طور که می‌دانیم ژنKCNJ11 زیرواحد Kir6.2 کانال پتاسیمی حساس به ATP (KATP) را رمزدهی می‌کند. در سابقه‌ی بررسی‌های in-vivo، پژوهش‌های زیادی وجود دارند که به اثبات تاثیر واریانت E23K ژن KCNJ11 در ایجاد نقص ترشح انسولین در افراد حامل آلل ریسکی K پرداخته‌اند، و یافته‌های آن‌ها حکایت از کاهش در ترشح انسولین دارد.[۹] زیرواحد Kir6.2 خود تترامری است که به وسیله‌ی تترامر SUR1 در کانال KATP احاطه شده است. بررسی پیوستگی واریانت‌های ژن کدکننده‌ی زیرواحد SUR1 با پیشرفت دیابت نوع ۲ در افراد چاق نیز از جمله پژوهش‌هایی است که پیش‌تر به بررسی آن پرداخته شده است. پژوهش‌های Evliyaoglu و همکاران از جمله آن‌ها است که در جمعیت ترکیه صورت گرفت.[۲۱] آن‌ها با بررسی واریانت G/A R1273R ABCC8(rs1799859) در جمعیت دیابتی و غیردیابتی خود، به بررسی اثر این پلی‌مورفیسم در پیشرفت دیابت نوع ۲ مبادرت کردند، و به ارتباط آللی معنی‌داری (۴۱٪ در مقابل ۲۴٪ و P<۰/۰۱) دست یافتند که این ارتباط به ویژه در گروه چاق دیابتی قوی‌تر بود (۴۴٪ در مقابل ۲۴٪ و P<۰/۰۱). نظر به این‌که هر دو ژن ABCC8 و KCNJ11 کد کننده‌ی دو زیرواحد مختلف از یک کانال مشترک (KATP) هستند، اثبات نقش تغییرات پلی‌مورفیسمی موثر در عملکرد کانال KATP (فعال کردن بیشتر کانال) با بروز دیابت نوع ۲ توسط Evliyaoglu و همکاران می‌تواند تاییدی بر کسب نتیجه‌ی مشابه‌ی پژوهش حاضر مبنی بر وجود پیوستگی بین پلی‌مورفیسم E23K ژنKCNJ11 (موثر بر عملکرد کانال) با پیشرفت دیابت نوع ۲ در افراد چاق جمعیت گیلان باشد.[۲۱] در پژوهشی دیگر، نلسون و همکاران مشاهده نمودند افراد سالم حامل آلل ریسکی K از BMI بالاتری نسبت به افراد واجد ژنوتیپ EE برخوردارند و ارتباط معنی‌داری را با بروز چاقی نشان می‌دهند.[۱۵] در نتیجه، منطقی به نظر می‌رسد از تلفیق یافته‌های به دست آمده از بررسی حاضر (وجود پیوستگی بین حاملین ژنوتیب KK با بروز دیابت نوع ۲ در افراد چاق جمعیت ایران) با یافته‌های مشابه پژوهش Evliyaoglu و همکاران روی ژن متفاوت (ABCC8) اما هم‌تراز ژن KCNJ11 و نیز مشاهدات نلسون و همکاران در افزایش BMI افرادی که آلل K را به ارث برده بودند، می‌توان ادعا نمود بروز دیابت در افراد چاق حامل الل ریسکی K مرتبط است.

اما چاوچی و همکاران به یافته‌های متفاوتی دست یافتند. آن‌ها ژن‌های اساسی در بروز دیابت در دو گروه ژن‌های موثر در ترشح و عملکرد انسولین را مورد پژوهش قرار دادند و به بررسی تعدادی از پلی‌مورفیسم‌های کلیدی ژن‌های مختلف از جمله واریانت E23K ژن KCNJ11 (موثر در ترشح انسولین) در دو جمعیت فرانسه و سوئیس پرداختند و نمونه‌ها به دو گروه چاق و غیر چاق دیابتی و غیر دیابتی مجزا نمودند. آن‌ها نتوانستند هیچگونه پیوستگی اللی و ژنوتیپی بین پلی‌مورفیسم E23K با پیشرفت دیابت نوع ۲ را در گروه‌های خود به اثبات برسانند.[۱۸] اگرچه آن‌ها نیز مانند پژوهش حاضر از سطح انسولینی بیماران خود آگاهی نداشتند، اما از تفسیر مجموع یافته‌های خود به این یافته رسیدند که افراد چاق هنگامی از استعداد ابتلا به دیابت نوع ۲ بالاتری برخوردارند که واریانت‌های موثر بر عملکرد انسولین را به ارث ببرند. در صورتی‌که واریانت‌هایی مانند E23K که بر ترشح انسولین تاثیر دارند قادرند بر استعداد ابتلای به دیابت نوع ۲ در افراد غیر چاق اثر قوی‌تری داشته باشند. این تفسیر با یافته‌های پژوهش حاضر که ارتباط پلی‌مورفیسم E23K را با T2D در گروه چاق، معنی‌دار نشان می‌داد در تناقض است. با وجود این‌که نمونه‌های شرکت‌کننده در پژوهش چاوچی و همکاران از حجم بیشتر و سطح BMI بالاتری برخوردارند، اما هتروژن بودن دلایل بروز دیابت مانند تاثیرات عوامل محیطی همانند تغذیه، فعالیت فیزیکی . . . و درون نژادی در یافته‌های به دست آمده

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-12-19]

از بر هم‌کنش آن‌ها با پلی‌مورفیسم (ژنتیک) می‌تواند توجیهی بر تنوع ایجاد شده از اثر آلل ریسکی K در جمعیت‌های مختلف باشد. بنابراین مقایسه‌ی تاثیر ژنوتیپ KK در میزان ترشح انسولین، فعالیت سلولی کانال، میزان پاسخ به داروی سولفونیل اوره و حساسیت انسولینی بافت‌های ماهیچه و کبد در افراد چاق دیابتی و غیردیابتی که از نظر سن، جنس و روش زندگی مشابه انتخاب می‌شوند، و همین‌طور بررسی اثر احتمالی سایر پلی‌مورفیسم‌های ژن KCNJ11 به غیر از E23K، می‌تواند راهگشای مناسبی در حل و تناقض‌های ایجاد شده از یافته‌های پژوهش حاضر و سایرین باشد.

چاقی یکی از فاکتورهای عمده‌ی ایجاد مقاومت انسولینی است که این مقاومت خود از عوامل دیگر ایجاد دیابت نوع ۲ در افراد می‌باشد. بنابراین از جمله محدودیت‌های پژوهش حاضر می‌توان عدم آگاهی از سطح انسولین افراد شرکت‌کننده در پژوهش، و عدم انجام تست تحمل گلوکز به منظور شناسایی افراد چاق دارای مقاومت انسولینی نام برد. به علاوه محدویت‌های عنوان شده، باید عدم بررسی پیوستگی سایر پلی‌مورفیسم‌های ژنKCNJ11 و پلی‌مورفیسم‌های ژن ABCC8، عدم محاسبه‌ی اثر متقابل پلی‌مورفیسم‌های دو ژن و حجم نمونه‌ی کوچک در مقایسه با بررسی‌های پیوستگی اخیر، را اضافه نمود که در صورت مهیا بودن، می‌توانست به درستی یافته‌های پژوهش کنونی و رد ابهام به دست آمده در مورد احتمال همبستگی مثبت کاذب پلی‌مورفیسم E23K با بروز دیابت نوع ۲ در افراد چاق گیلانی قوت ببخشد.

پژوهش حاضر، مدرکی دال بر نقش احتمالی پلی مورفیسم E23K با گسترش دیابت نوع ۲ در افراد چاق جمعیت شمال ایران فراهم آورده است. براساس این پژوهش مشاهده گردید عوامل محیطی مانند چاقی در افراد حامل آللK، با ایجاد نقص در هموستاز گلوکز بافت‌های مختلف، استعداد ابتلا به دیابت نوع ۲ را افزایش می‌دهد.[۱۶] به این سبب برای دست یافتن به نقش موثرتر ژن KCNJ11 در گسترش دیابت نوع ۲ درافراد چاق، انجام بررسی‌های in-vivo (مانند پژوهش clamp و HOMA –IR) و انجام بررسی مشابه با حجم نمونه‌ی بزرگتر و برطرف نمودن سایر محدودیت‌های طرح گذشته عنوان شد، توصیه می‌گردد.

سپاسگزاری: پژوهش‌گران از تمام شرکت‌کنندگان و داوطلبین خون‌دهنده‌ی بیمار و سالم تشکر و قدردانی نمایند. هم‌چنین، مراتب تشکر خود را نسبت به جناب آقای دکتر آشتیانی و همکاران محترم در آزمایشگاه پاتوبیولوژی اعلام می‌داریم، و از زحمات دکتر هدایتی، دکتر امینی در مرکز تحقیقات دیابت بیمارستان آموزشی رازی شهر رشت و تمام دوستان و همکاران عزیزی که در اجرای پروژه ما رای یاری نمودند تقدیر و تشکر به عمل می‌آوریم.

References

1. Polonsky KS, Sturis J, Bell GI. Seminars in Medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. Non-insulin-dependent diabetes mellitus: a genetically programmed failure of the beta cell to compensate for insulin resistance. N Engl J Med 1996; 334: 777-83.
2. Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. Nature 2006; 444: 840-46.
3. Bell CG, Walley AJ, Froguel P. The genetics of human obesity. Nat Rev Genet 2005; 6: 221-34.
4. Elbein SC. Perspective in the search for genes for type 2 diabetes post- genome era. Endocrinology 2002; 143: 2012- 8.
5. Ashcroft FM. The Walter B. Cannon Physiology in Perspective Lecture, 2007. ATP-sensitive K+ channels and disease: from molecule to malady. Am J Physiol Endocrinol Metab 2007; 293: E880-9.
6. Riedel M J, Boora P, Steckley D, de Vries G, Light PE. Kir6.2 polymorphisms sensitize beta-cell ATP-sensitive potassium channels to activation by acyl CoAs: a possible cellular mechanism for increased susceptibility to type 2 diabetes? Diabetes 2003; 52: 2630-5.
7. Gloyn A, Weedon M, Owen K, Turner M, Knight B, Hitman G, et al. Large-scale association studies of variants in genes encoding the pancreatic β-cell KATP channel subunits Kir6.2 (KCNJ11) and SUR1 (ABCC8) confirm that the KCNJ11 E23K variant is associated with type 2 diabetes. 2003; Diabetes 2003; 52: 568-72.
8. Villareal DT, Koster JC, Robertson H, Akrouh A, Miyake K, Bell MI, et al. Kir6.2 variant E23K increases ATP-sensitive K+ channel activity and is associated with impaired insulin release and enhanced insulin sensitivity in adults with normal glucose tolerance. Diabetes 2009; 58: 1869-78.
9. Stancáková A, Javorský M, Kuulasmaa T, Haffner SM, Kuusisto J, Laakso M. Changes in insulin sensitivity and insulin release in relation to glycemia and glucose tolerance in 6,414 Finnish men. Diabetes 2009; 58: 1212-21.
10. Ezzidi I, Mtiraoui N, Cauchi S, Vaillant E, Dechaume A, Chaieb M, et al. Contribution of type 2 diabetes associated loci in the Arabic population from Tunisia: a case-control study. BMC Med Genet 2009; 10: 33.
11. Sanghera DK, Ortega L, Han S, Singh J, Ralhan SK, Wander GS, et al. Impact of nine common type 2 diabetes risk polymorphisms in Asian Indian Sikhs: PPARG2 (Pro12Ala), IGF2BP2, TCF7L2 and FTO variants confer a significant risk. BMC Medical Genetics 2008; 9: 59.
12. Scott L, Mohlke K, Bonnycastle LL, Willer CJ, Li Y, Duren WL, et al. A genome-wide association study of type 2 diabetes in Finns detects multiple susceptibility variants. Science 2007; 316: 1341-5.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-12-19]

13. Zeggini E, Weedon MN, Lindgren CM, Frayling TM, Elliott KS, Lango H, et al. Replication of genome-wide association signals in UK samples reveals risk loci for type 2 diabetes. Science 2007; 316: 1336-41.
14. Saxena R, Voight BF, Lyssenko V, Burtt NP, Bakker PI, Chen H, et al. Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels. Science 2007; 316: 1331-6.
15. Nielsen EM, Hansen L, Carstensen B, Echwald SM, Drivsholm T, Glumer C, et al. The E23K variant of Kir6.2 associates with impaired post–OGTT serum insulin response and increased risk of type 2 diabetes. Diabetes 2003; 52: 573-7.
16. Wan J, Jiang X, Bai J, Shen D, Wang T. The effects of E23K polymorphism in Kir6.2 subunit on insulin sensitivity in skeletal muscle cells by long-chain fatty acyl CoA. Biochem Biophys Res Commum 2009; 381: 496-501.
17. Riedel MJ, Light PE. Saturated and cis/trans unsaturated acyl CoA esters differentially regulate wild-type and polymorphic beta-cell ATP-sensitive K+ channels. Diabetes 2005; 54: 2070-9.
18. Cauchi S, Nead KT, Choquet H, Horber F, Potoczna N, Balkau B, et al. The genetic susceptibility to type 2 diabetes may be modulated by obesity status: implications for association studies. BMC Med Genet 2008; 45: 2350-9.
19. Samadikuchaksaraei A, Fasihi Ramandi M, Khatami S, Hashemi M, Haqparast S, Fard-Esfahani P. E23K polymorphism in Iranian patients with coronary heart disease. Arya Atherosclerosis Journal 2009; 5: 55-60.
20. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res 1988; 16: 1215.
21. Evliyaoglu O, Sancaktar E, Söğüt E, Başaralı MK, Uzuncan N, Karaca B. Association of a single nucleotide polymorphism in the SUR1 gene with type 2 diabetes and obesity in Turkish patients. Clin Exp Invest 2011; 2: 161-7.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-12-19]

Original Article

The Association Study of The E23k Kcnj11 Variant with Progression of Type 2 Diabetes Among Obese Individuals in A Population in the North of Iran

Ghasemi M[1], Habibipour R[2], Keshavarz P[3]

[1]Department of Genetics, Faculty of Science, Sciences and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, [2]Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, and [3]Cellular and Molecular Research Center, Faculty of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Guilan, I.R. Iran

e-mail: parvan1372@yahoo.com

Received: 13/08/2011 **Accepted**: 24/10/2011

Abstract

Introduction: Obesity is a polygenic disorder and a risk factor for type 2 diabetes (T2D). The E23K variant of KCNJ11gene is responsible for reduction in electrical excitability of pancreatic β-cells contributing to the impairment of insulin secretion, a common dysfunction in obese T2D individuals due to increase in KATP channel activity in the presence of LC-CoAs. Several studies have reported the association of the E23K variant with T2D and obesity in different populations. The aim of this study was to investigate the association of the E23K variant with progression of T2D among obese individuals in a population of Guilan in the north of Iran. Materials and Methods: Two case-control association studies were performed using 210 T2D and non-diabetic-obese individuals as well as 536 T2D and non-diabetic subjects without obesity. MGB TaqMan assay by Real time PCR (ABI 7300) was applied for genotyping of samples. Results: According to allele frequency, there were no significant differences between diabetic and non-diabetic obese subjects or between non-obese individuals with and without T2D. With genotype frequency comparison, in obese subjects there was significant difference between diabetic and non diabetic individuals in a recessive genetic model [OR=4.4 CI 95 %(0.98-19.96) P=0.024]. However, in non-obese individuals, there was no significant difference in diabetic and non diabetic subjects. Conclusion: This study reports that the E23K variant is associated with progression of T2D in obese individuals. More investigations in larger populations with insulin measurment are recommended.

Keywords: Type 2 diabetes, Obesity, polymorphism, E23K, Association study, KCNJ11

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-12-19]