مقاله پژوهشي

بررسی پلی‌مورفیسم C49620T در ژن ABCC8 در بیماران دیابت نوع ۲ در آذربایجان شرقی

شایسته جودی شاه‌آباد[۱]، حسین سلطان‌زاده [۲*]، منوچهر قوجایی[۳] فاطمه حسین‌پور شوردرق[٤]

تاریخ دریافت ۱۳۹۹/۱۱/۰۸ تاریخ پذیرش ۱٤۰۰/۰۱/۱۷

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: دیابت نوع ۲، یک بیماری مزمن و تهدید کننده سلامت عمومی است. این بیماری با عوارض بالا در سراسر جهان در حال افزایش است. واریانت C49620T ژن ABCC8 یکی از شایع‌ترین پلی‌مورفیسم هایی است که با دیابت نوع ۲ مرتبط است. هدف از این مطالعه بررسی همراهی پلی‌مورفیسم‌های C49620T از ژن ABCC8 با دیابت نوع دو در جمعیت استان آذربایجان شرقی است.

مواد و روش کار: بدین منظور ۱۰۰ نمونه خونی از افراد بیمار مبتلا دیابت و ۱۰۰ نمونه خونی از افراد سالم جمع‌آوری شد. بعد از استخراج DNA از تمامی نمونه‌ها و کیفیت سنجی با الکتروفورز، نمونه‌ها با پرایمر اختصاصی، PCR و الکتروفورز انجام گرفت. تعیین ژنوتیب با استفاده از روش PCR-RFLP انجام شد. در نهایت با آنزیم محدود کننده Pst1 محصولات PCR، تیمار شده و دوباره الکتروفورز گردید و پلی‌مورفیسم هدف مشاهده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های TT، CC و CT در گروه بیمار و سالم به‌ترتیب برابر با ۲۶، ۵۲، ۲۲ درصد و ۵۳، ۱۷ و ۳۰ می‌باشد و مقایسه آماری فراوانی ژنوتیپ CT بین افراد سالم و بیمار معنی‌دار نبود ($p>0.05$) ولی بین فراوانی TT و CC در افراد سالم و بیمار اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p<0.05$). شایان ذکر است که درصد آلل T نیز در افراد سالم و بیمار به‌ترتیب ۳۷ درصد و ۶۸ درصد و درصد آلل C در افراد سالم و بیمار به‌ترتیب ۶۳ درصد و ۳۲ درصد گزارش شد.

بحث و نتیجه‌گیری: مقایسه‌ها در این مطالعه نشان می‌دهد که احتمالاً بین پلی‌مورفیسم C49620T در اینترون ژن ABCC8 و ابتلا به دیابت رابطه وجود داشته باشد. بنابراین با مطالعات گسترده‌تر می‌توان به نتایج دقیق‌تر رسید و تشخیص استعداد ابتلا به دیابت را در جمعیت‌های مختلف بررسی کرد.

کلیدواژه‌ها: پلی‌مورفیسم C49620T، ژن ABCC8، دیابت

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و دوم، شماره سوم، ص ۱۹۵-۱۸۷، خرداد ۱٤۰۰

آدرس مکاتبه: بناب، گروه زیست شناسی، دانشکده تحصیلات تکمیلی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بناب، تلفن: ۰۴۱-۳۷۴۰۱۰۵۶

Email: Hossien4040@gmail.com

مقدمه

دیابت از دیرباز به‌عنوان یکی از بیماری‌های رو به افزایش و یکی از مشکلات فراگیر مورد توجه محققان و پزشکان قرار گرفته است. از سوی دیگر افزایش میزان شیوع بیماری عاملی بر افزایش هزینه‌های اقتصادی برای کشورها است. دیابت نوع ۲ با عوارض بالا در سراسر جهان همراه است (۱). این بیماری زمینه‌ساز مشکلاتی چون بیماری‌های کلیوی، نابینایی، قطع اندام غیر ترومایی نوروپاتی، نفروپاتی و رتینوپاتی می‌باشد. پیشرفت در تشخیص زودهنگام، میزان عوارض دیابت را در سال‌های اخیر کاهش داده است اما پاتوژنز دیابت نوع ۲ طی مدت‌زمانی طولانی رخ می‌دهد و شامل بسیاری از عوامل محیطی و سبک زندگی، مانند رژیم غذایی با چربی بالا، رژیم غذایی کلسترول بالا، چاقی و اضافه وزن و عدم وجود از فعالیت، و همچنین فشار خون بالا می‌شود (۲، ۳). علاوه بر این، مطالعات ارتباط گسترده ژنوم جایگاه‌های مختلف ژنتیکی دخیل در شروع، پیش آگهی و یا شدت دیابت نوع ۲ را نشان داده است (۴). هدف از انجام فرآیندهای پیشگیری و غربالگری، ارزیابی میزان خطر ابتلا است (۵). پلی‌مورفیسم یا SNP (Single Nucleotide polymorphism) به تفاوت‌های فردی ژنتیکی که با

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بناب، بناب، ایران

[۲] استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بناب، بناب، ایران (نویسنده مسئول)

[۳] استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بناب، بناب، ایران

[٤] دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بناب، بناب، ایران

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-11-04]

استعداد ابتلا به برخی بیماری‌ها در ارتباط باشند گفته می‌شود. مطالعه‌های ژنتیکی قومی و منطق‌های در زمینه اختلافات تک نوکلئوتیدی می‌تواند مبنای تشخیص و درمان فارماکولوژیک برخی از انواع بدخیمی‌ها شود. نتایج حاصل از مطالعات GWAS (Genome Wide Association Studies) حاکی از آن بوده که واریانت های ژنی بسیاری موسوم به تفاوت‌های تک نوکلئوئیدی SNP وجود دارند که می‌توانند با استعداد ابتلا به دیابت در ارتباط باشند بررسی این پلی‌مورفیسم ها یا تفاوت‌های فردی ژنتیکی در جمعیت‌های مختلف می‌تواند قدرت تشخیص را بسیار افزایش دهد. مطالعات پیوستگی (linkage) و GWAS طی سال‌های گذشته باعث تشخیص شمار زیادی از SNPهای در ارتباط با دیابت شدند که در لکوس‌های خاصی قرار دارد. یکی از مهم‌ترین اهداف بررسی‌های ژنتیکی، شناسایی پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلوتیدی و آلل‌هایی است که با بیماری‌ها در ارتباط هستند و به‌عنوان عوامل مستعدکننده برای ابتلا به بیماری در افراد مختلف شناسایی می‌شوند (۶، ۷). مطالعات پیوستگی نشان دادند که برخی از ژن‌ها با بیماری دیابت نوع ۲ ارتباط دارند ولی با توجه به جمعیت مورد مطالعه ژن‌های درگیر دربیماری، می‌توانند متفاوت باشد. یکی از ژن‌های کاندید که در طی این سال‌ها ارتباط آن با بیماری دیابت نوع ۲ مورد مطالعه قرار گرفته است ژن ABCC8 است. این ژن به‌عنوان جایگاهی برای هیپوگلیسمی هیپرانسولینمی خانوادگی دوران کودکی، یک اختلال اتوزومی مغلوب که با ترشح نامنظم انسولین همراه می‌باشد، شناخته شده است (۸). واریانت C49620T ژن ABCC8 شایع‌ترین پلی‌مورفیسمی است که انسولین کد را می‌کند. مطالعات نشان داده است که واریانت C49620T با دیابت نوع ۲ ارتباط دارد (۹). برای مثال گزارش شده است که پلی‌مورفیسم در ژن ABCC8 با پاسخ انسولین در افراد آمریکایی - مکزیکی و یابت نوع ۲ در کانادایی‌های فرانسوی، برخلاف جمعیت اسکاندیناوی همراه است (۱۰). واریانت C49620T ژن ABCC8 شایع‌ترین پلی‌مورفیسمی است که با دیابت نوع ۲ مرتبط است (۱۱). اگرچه ارتباط پلی‌مورفیسم C / T ژن ABCC8 در اگزون ۳-۱۶ (rs1799854) با دیابت نوع ۲ در بسیاری از گروه‌های جمعیتی نشان داده شده است، با این حال این ارتباط در افراد بومی آفریقایی که دارای دیابت نوع ۲ هستند، ثابت نشده است (۱۲). پلی‌مورفیسم ژن ABCC8 که یک گیرنده سطحی برای سولفونیل اوره ۱ sulfonylurea receptor 1 (SUR1) بوده و یکی از زیر واحدهای کانال پتاسیم حساس به ATP است و در غشای سلول در سلول‌های بتا لوزالمعده دیده می‌شود و نقش اساسی در تنظیم ترشح انسولین ایفاء می‌کند (۱۳). گزارش شده است که میزان بیان ژن ABCC8 در بیماران دیابتی نوع ۲ در مقایسه با افراد سالم افزایش می‌یابد (۱۴). این رابطه ممکن است با این واقعیت توضیح داده شود که تغییر در ژن‌های کدکننده زیر واحد کانال پتاسیم به‌واسطه دخالت در ترشح انسولین باعث تغییر هموستاز گلوکز شود (۱۵). این یافته‌ها این فرضیه را تقویت می‌کنند که نقص ترشح انسولین در دیابت نوع ۲ ممکن است حداقل تا حدی به تغییرات آللی در ژن SUR1 مربوط باشد (۱۱).

هدف این مطالعه بررسی فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی‌مورفیسم C49620T ژن ABCC8 و تأثیر این پلی‌مورفیسم بر بروز دیابت نوع ۲ می‌باشد.

مواد و روش کار

در این مطالعه‌ی موردی- شاهدی ابتدا ۱۰۰ نمونه خونی از افراد بیمار مبتلا به دیابت نوع ۲ و ۱۰۰ نمونه خونی از افراد سالم پس از کسب رضایت‌نامه کتبی از آنها، تکمیل پرسشنامه و اخذ کد اخلاق پزشکی (IR.IAU.TABRIZ.REC.1398.102) تهیه شد. هر دو گروه از لحاظ مشخصات سنی، وزنی، جنسیت و منطقه جغرافیایی با یکدیگر مطابقت داشتند. نمونه‌گیری از بیماران مبتلا به دیابت مراجعه‌کننده به مرکز تأمین اجتماعی بناب، از هر نفر ۲ میلی‌لیتر خون، جهت انجام استخراج ژنوم هر فرد دریافت و در لوله‌های حاوی (EDTA با غلظت ۰،۵ مولار) در دمای منفی ۲۰ سانتی‌گراد نگهداری شد.

استخراج DNA از خون:

در این مطالعه مطابق پروتکل کیت استخراج (BioBasic – کانادا) استخراج DNA ژنومی انجام شد

بررسی کیفیت DNA استخراج شده:

لازمه یک PCR موفق، داشتن DNA خالص به مقدار معین است. جهت بررسی کیفیت DNA استخراج شده از روش الکتروفورز روی ژل اگاروز یک درصد استفاده گردید.

پرایمر:

پرایمرها (جدول ۱) از طریق شرکت کالازیست از شرکت takapozist خریداری شد.

جدول (۱): توالی پرایمرهای مورد استفاده در واکنش PCR

نام پرایمر	توالی پرایمر	طول (جفت باز)
مستقیم	5`- TTGGGTGCATCTGTCTGTCTGTCTTT -3`	۲۶
معکوس	5`- AGCCCACCTGCCCCACGAT -3`	۱۹

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-11-04]

انجام PCR برروی DNA استخراج شده از نمونه‌های خون:
ابتدا پرایمرهای مستقیم و معکوس به مقدار توصیه شده توسط شرکت سازنده به غلظت ۱۰۰ میکرومولار رقیق سازی شد، سپس برای تهیه غلظت کاری پرایمرها بعد از انجام رقت غلظت پرایمرها غلظت ۱ به ۱۰ برای انجام آزمایش انتخاب شد. برای انجام واکنش PCR طبق پروتکل شرکت سازنده (Master Mix AMPLIQON) ۱۳ میکرولیتر از Master Mix، ۱/۵ میکرولیتر هر کدام از پرایمرهای مستقیم و معکوس و ۸ میکرولیتر آب دیونیزه به همان میکروتیوپ منتقل شد و محتویات آن یک دور کوتاه به آرامی اسپین گردید. سپس به داخل آن ۲ میکرولیتر از محتویات میکروتیوپ DNA استخراج شده منتقل شده و یک دور کوتاه به آرامی اسپین گردید. نهایتاً میکروتیوپ با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر در دستگاه ترموسایکلر مدل BIO RAD آمریکا قرار گرفت. پس از اتمام واکنش PCR، الکتروفورز محصول PCR روی ژل آگارز ۱ درصد انجام گردید (۱۶).

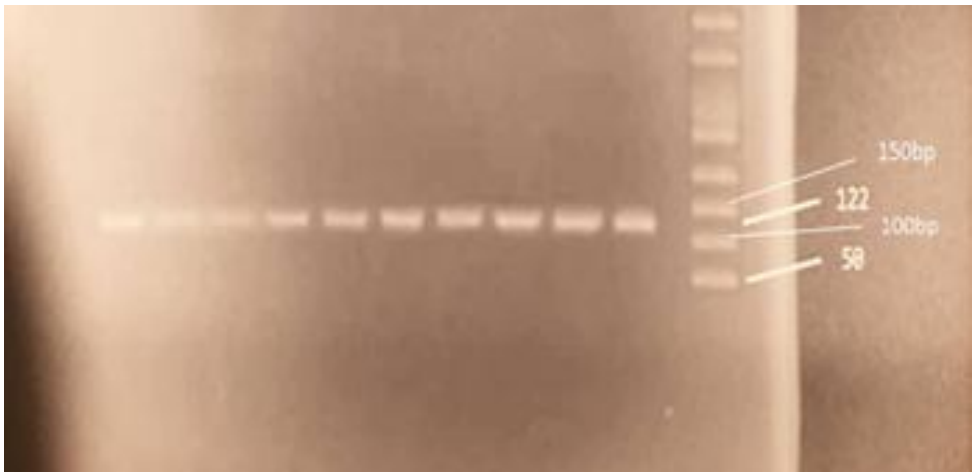
تیمار محصولات PCR با آنزیم محدود کننده PST1:
برای انجام، طبق پروتکل آنزیم محدود کننده مورد مطالعه (PSTI) به اندازه ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR یکی از نمونه‌ها، داخل میکروتیوپ ریخته شد سپس ۱۸ میکرولیتر آب دیونیزه به آن افزوده شد. همچنین به اندازه ۲ میکرولیتر از buffer و ۲ میکرولیتر از آنزیم محدود کننده PSTI (شرکت thermo fisher ساخت کشور آمریکا) به داخل آن اضافه شد. سپس به آرامی با عمل پیپتینگ مخلوط شد و درب میکروتیوپ محکم بسته شد و پارافین گذاری گردید. این مراحل برای سایر نمونه‌ها هم تکرار گردید. نهایتاً میکروتیوپ در داخل بن ماری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱۶ ساعت قرار داده شد. جهت انجام الکتروفورز محصولات PCR تیمار شده با آنزیم محدود کننده، ابتدا ژل آگاروز ۲ درصد تهیه و الکترفورز گردید.

روش تجزیه‌وتحلیل داده‌ها و آنالیز آماری:
داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۲۳ تجزیه وتحلیل شدند. برای بررسی ارتباط ژنوتیپ ها با بروز بیماری از آزمون کای مربع استفاده شد. برای تعیین انحراف از تعادل هاردی واینبرگ از آزمون chi-square با درجه آزادی (df) یک بررسی شد.

یافته‌ها

نتایج بررسی اطلاعات دموگرافیک بیماران:
اطلاعات دموگرافیک. ۱۰۰ نمونه خون مربوط به افراد مبتلا به دیابت و ۱۰۰ نمونه خون سالم به‌عنوان گروه کنترل بررسی شد. در میان نمونه‌ها ۴۰ درصد مردان و ۶۰ درصد را زنان تشکیل دادند که میانگین سنی حدود ۵۱ سال بود. در میان مردان ۵۴ درصد سالم و در میان زنان ۴۶ درصد سالم هستند و در گروه دیابتی ۳۳ درصد افراد دیابتی مرد و ۶۷ درصد از آنها زنان هستند. پارامترهای دموگرافیک و بالینی در بیماران با سه ژنوتیپ باهم مورد بررسی قرار گرفت و اختلاف معناداری بین این پارامترها و ژنوتیپ بیماران مشاهده نشد ($p>0.05$).

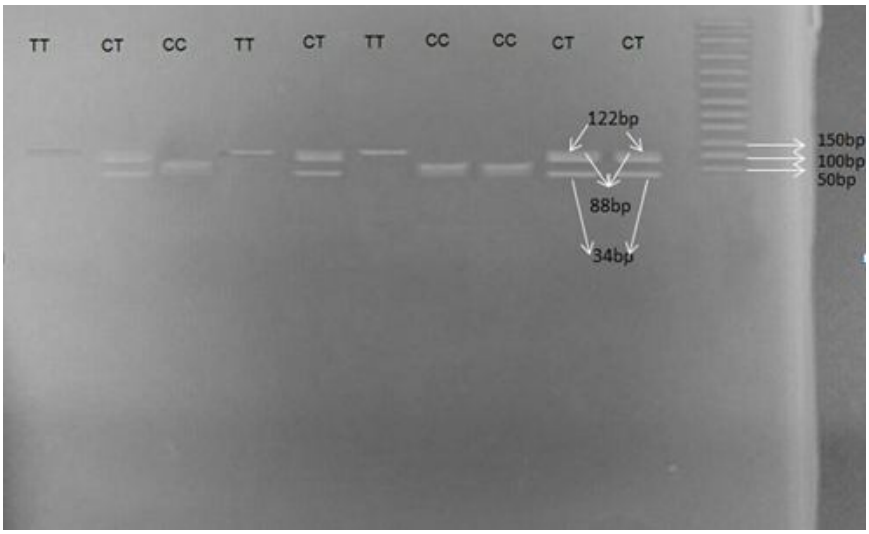
نتایج الکتروفورز محصولات PCR:
طول قطعه مورد نظر ۱۲۲ جفت باز بود که در فاصله بین باندهای ۱۰۰ و ۱۵۰ جفت بازی از لدر تشکیل شد لدر مورد استفاده ۵۰ جفت بازی می‌باشد. (شکل ۱).



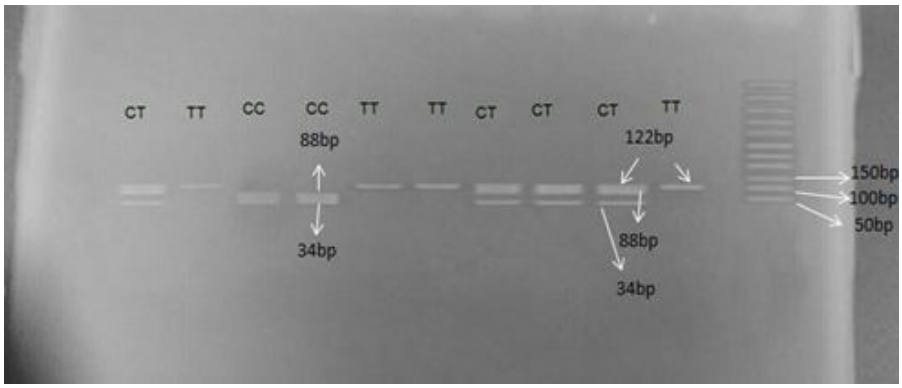
شکل (۱): نمونه ژل الکتروفورز محصولات PCR

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-11-04]

در محل برش آنزیم Pst1، در صورت تبدیل آلل C به T، این آنزیم جایگاه برش نداشـــته و قطعه ۱۲۲ جفت بازی برش نخواهد یافت. در صـــورت هموزیگوت بودن C، دو قطعـه ۸۸ و ۳۴ جفـت بازی خواهیم داشـت و در صورت هتروزیگوت بودن، ۳ قطعه ۳۴، ۸۸ و ۱۲۲ جفت بازی خواهیم داشت (شکل ۲ و ۳).



شکل (۲): نتایج الکتروفورز محصول PCR تیمار شده با آنزیم Pst1 در افراد سالم



شکل (۳): نتایج الکتروفورز محصول PCR تیمار شده با آنزیم Pst1 در افراد بیمار

آنالیز آماری داده‌های حاصل از بررسی فراوانی ژنوتیپ‌ها:

بر روی داده‌های حاصـل از فراوانی ژنوتیپ‌ها، آزمون کای اسـکوئر (chi-square) انجـام گرفـت. نتایج این آزمون نشـــان می‌دهد که سـطح معنی‌داری به دسـت آمده برابر ۰/۰۰۰۱ می‌باشـد. بنابرین می‌توان گفت که بین فراوانی ژنوتیپ‌ها در بین گروه افراد سـالم و گروه بیمار اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P<0.05$) (جدول ۲).

جدول (۲). مقایسه فراوانی دو گروه بیمار و سالم برحسب طبقات متغیر ژنوتیپ

متغیر	طبقات	گروه		میزان کای مجذور	P
		سالم	بیمار		
ژنوتیپ	TT	۲۶(۲۶ درصد)	۵۳ (۵۳ درصد)	۲۸/۲۱۲	۰/۰۰۰۱
	CC	۵۲ (۵۲ درصد)	۱۷ (۱۷ درصد)		
	CT	۲۲(۲۲ درصد)	۳۰ (۳۰ درصد)		

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-11-04]

نتایج بررسی فرکانس ژنوتیپ‌ها در جامعه هدف سه نوع ژنوتیپ مورد نظر در این تحقیق شامل TT، CT و CC بود که فرکانس‌ها آنها در جامعه هدف مورد مطالعه در این تحقیق که از ۱۰۰ نفر سالم و ۱۰۰ نفر بیمار تشکیل شده بودند، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که فراوانی ژنوتیپ‌های TT، CT و CC در افراد سالم به‌ترتیب ۲۶، ۲۲ و ۵۲ مورد و فراوانی ژنوتیپ‌های TT، CT و CC در افراد بیمار به‌ترتیب ۵۳، ۳۰ و ۱۷ مورد می‌باشد. نتایج نشان می‌دهد که در بین افراد سالم، ژنوتیپ CC بیشترین و ژنوتیپ CT کم‌ترین فراوانی را دارد و در بین افراد بیمار ژنوتیپ TT بیشترین و ژنوتیپ CC کم‌ترین فراوانی را دارد. مقایسه فراوانی ژنوتیپ CT بین افراد سالم و بیمار معنی‌دار نبوده ($p>0.05$) ولی بین فراوانی مابقی ژنوتیپ‌ها در افراد سالم و بیمار اختلاف معنی‌داری وجود دارد. ($p<0.05$) پس از حصول فراوانی ژنوتیپ‌ها و بررسی آنها، فرکانس آلل‌ها و درصد محاسبه گردید. نتایج این محاسبه در جدول‌های ۴ و ۵ آورده شده است.

جدول (۳): درصد آلل‌های مورد مطالعه و اختلاف درصد آنها در افراد سالم و بیمار

نام آلل	درصد آلل در افراد بیمار	درصد آلل در افراد سالم	درصد اختلاف بین افراد سالم و بیمار	میزان کای مجذور	P
T	۶۸ درصد	۳۷ درصد	۳۱ درصد		
C	۳۲ درصد	۶۳ درصد	۳۱ درصد	۲۸/۲۱۲	۰/۰۰۰
مجموع	٪۱۰۰	٪۱۰۰			

جدول (۴): فراوانی آلل‌های مورد مطالعه و اختلاف درصد آنها و ریسک ابتلا و در افراد سالم و بیمار آلل T در افراد بیمار ۱۳۶ و در افرادسالم ۷۴ می‌باشدکه فراوانی الل T در افراد بیمار نسبت به افراد سالم ۳۱ درصد کاهش نشان می‌دهد و آلل C در افراد بیمار ۶۴ و در افراد سالم ۱۲۶ می‌باشد که فراوانی الل C در افراد بیمار نسبت به افراد سالم ۳۱ درصد افزایش نشان می‌دهد.

نام الل	افراد بیمار (تعداد)	افراد سالم (تعداد)	درصد اختلاف بین افراد سالم و بیمار	P- value	OR (CI 95%)
T	۱۳۶	۷۴	٪۳۱	0.0001	۳/۶۱۸
C	۶۴	۱۲۶	٪۳۱	.-	--
غالبیت TT	۵۳	۲۶	-	1.000	1.000
CC+CT	۴۷	۷۴	-	-	-

داده‌های حاصل از بررسی فرکانس آلل‌ها در جامعه هدف مورد مطالعه در نمودار ۱ نشان داده می‌شود که آلل T در افراد بیمار بیشترین فراوانی را داشته و نسبت به افراد سالم ۳۱ درصد افزایش نشان می‌دهد. آلل C نیز در افراد سالم بیشترین فراوانی را داشته و نسبت به افراد بیمار ۳۱ درصد کاهش نشان می‌دهد. این مقایسه‌ها نشان می‌دهد که احتمالاً بین افزایش آلل T و ابتلا به دیابت رابطه وجود داشته باشد (نمودار ۱). فراوانی اللی T که الل پلی‌مورفیسم می‌باشد در گروه سالم ۳۷ درصد و در گروه بیمار ۶۸ درصد می‌باشد که ۳۱ درصد در گروه بیمار افزایش نشان می‌دهد که احتمالاً بین افزایش الل T و ریسک ابتلا به دیابت نوع دو رابطه‌ای وجود داشته باشد و ریسک ابتلا در گروه بیمار ۳/۶۱۸ می‌باشد و ازآنجاکه بیشتر از یک می‌باشد احتمال ریسک ابتلا به بیماری موجود است در ضمن ریسک ابتلا در گروه سالم ۵۳۱/ می‌باشد که کم‌تر از یک می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه‌ی حاضر فرکانس پلی‌مورفیسم‌های C49620T از ژن ABCC8 در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ در استان آذربایجان شرقی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که به‌جز در ژنوتیپ CT، بین فراوانی ژنوتیپ‌ها در بین گروه افراد سالم و گروه بیمار اختلاف معنی‌داری وجود دارد، به‌طوری که بیشترین فراوانی در گروه سالم و بیمار به‌ترتیب متعلق به ژنوتیپ‌های CC و TT می‌باشد. با تشخیص زودهنگام، میزان عوارض دیابت در سال‌های اخیر کاهش یافته است، با این حال پیشگیری از دیابت نوع ۲ همیشه

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-11-04]

یک چالش عمومی در سلامت جامعه است (۲). علاوه بر این، مطالعات ژنومی جایگاه‌های مختلف ژنتیکی دخیل در این بیماری، پیش آگهی و یا شدت دیابت نوع ۲ را نشان می‌دهد (۴، ۱۷). یکی از مهم‌ترین اهداف بررسی‌های ژنتیکی، شناسایی پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلوتیدی و آلل‌هایی است که با بیماری‌ها در ارتباط هستند و به‌عنوان عوامل مستعدکننده برای ابتلا به بیماری در افراد مختلف شناسایی می‌شوند (۶).

نتایج حاصل از مطالعه‌ی پلی‌مورفیسم C49620T از ژن ABCC8 در مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که میزان فراوانی ژنوتیپ‌های TT، CT و CC به‌ترتیب از ۲۶، ۲۲ و ۵۲ در گروه سالم به ۵۳، ۳۰ و ۱۷ در گروه بیمار تغییر کرده است و فراوانی ژنوتیپ TT در گروه بیمار نسبت به ژنوتیپ‌های CC و CT بیشتر است. هم راستا با نتیجه‌ی مطالعه‌ی حاضر Engwa و همکاران در سال ۲۰۱۸ مشاهده کردند که فراوانی ژنوتیپ TT در مقایسه با گروه دوم بالاتر از ژنوتیپ CC و CT در بیماران مبتلا به دیابت بود (۱۸).

مطالعه‌ی فرکانس آلل‌ها در پژوهش حاضر نشان داد که درصد آلل‌های T و C در گروه بیمار نسبت به گروه سالم به‌ترتیب افزایش و کاهش می‌یابد. طی مطالعه‌ای مشخص شد که آلل T بر آلل C غالب است و میزان خطر با ابتلا به دیابت ارتباط دارد. این مطالعه شیوع بالاتر آلل C ژن ABCC8 را در بیماران مبتلا به دیابت در مقایسه گروه کنترل نشان داد. ممکن است علت این تناقض این باشد که این مطالعه بر روی جمعیت افراد نیجریه انجام شده است، از سوی دیگر آنها در مطالعه‌ی خود ارتباط این الل را با چربی‌های بدن بررسی کردند و ارتباط معناداری یافت نشده است (۱۷). به علاوه هم سو با مطالعه‌ی حاضر، Molęda و همکاران در سال ۲۰۱۲، رابطه پلی‌مورفیسم مشترک C49620T در ژن گیرنده سولفونیل اوره (SUR1) و متابولیسم گلوکز، عملکرد ترشحی سلول‌های β و مقاومت به انسولین در زنان با سابقه دیابت حاملگی (GDM) را مورد مطالعه قرار دادند و مشاهده کردند که پلی‌مورفیسم C49620T در اینترون ۱۵ ژن SUR1 قرار دارد، بطوریکه توزیع پلی‌مورفیسم مورد مطالعه در دو گروه از یکدیگر فرقی نمی‌کند. هیچ ارتباطی بین توزیع پلی‌مورفیسم و اختلالات متابولیسم همزمان گلوکز یافت نشد. پلی‌مورفیسم C49620T در ژن SUR1 با مقاومت به انسولین و یا ترشح انسولین در زنان با سابقه GDM همراه نیست و بر رشد GDM یا رشد عدم تحمل گلوکز در جمعیت مورد مطالعه تأثیر نمی‌گذارد (۱۹).

با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعه‌ی حاضر می‌توان مشاهده کرد که در گروه بیماران ژنوتیپ TT بیشترین فراوانی را دارد. این نتیجه موافق نتیجه مطالعه‌ی Nikolac و همکاران در سال ۲۰۰۹ می‌باشد که در میان ۲۲۸ بیماران قفقازی با دیابت نوع ۲ ژنوتیپ TT همراه با افزایش قابل‌توجهی از غلظت HbA در بیماران تحت درمان با سولفونیل اوره بود، اما تفاوتی در غلظت قند خون ناشتا و پس از قاعدگی وجود ندارد (۲۰). هم چنین نتایج مطالعه‌ی ما نشان می‌دهد که فراوانی ژنوتیپ CC در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است. نتایج حاضر با ژنوتیپ CC که در جمعیت چینی و هلندی تمایل بیشتری به ابتلا به دیابت نوع ۲ داشت، مخالف می‌باشد و ممکن است علت این امر تفاوت در میزان گلوکز پلاسما در حالت ناشتا، گلوکز پس از مصرف، غلظت لیپیدها باشد که در دو گروه با هم تفاوت دارد (۲۱). از طرف دیگر مشخص شده است که پلی‌مورفیسم rs1799854 در اینترون ژن ABCC8 قرار دارد. از ۱۷ مطالعه در مورد جمعیت‌های آسیایی و قفقازی، شش مورد از ارتباط بین این واریانت و خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ در جمعیت‌های ژاپنی، چینی، فرانسوی، ترکی و هلندی را نشان داد در حالی که ناقلین ژاپنی و ترکی ژنوتیپ CT نسبت به دیابت نوع ۲ حساس‌تر بودند و ژنوتیپ CC تمایل بیشتری به خطر ابتلا دیابت نوع ۲ در جمعیت چینی و هلندی داشت. از سوی دیگر، ارتباطاتی بین rs1799854 و پارامترهای متابولیک در دیابت نوع ۲ گزارش شده است. دو مطالعه رابطه این پلی‌مورفیسم را با گلوکز پلاسما در حالت ناشتا، گلوکز پس از مصرف، غلظت لیپیدها در بیماران تحت درمان با سولفونیل اوره تعیین کردند. بیماران حامل آلل C پس از ۶ ماه بیشتر مستعد افزایش غلظت تری‌گلیسرید بودند و علاوه بر این، ناقلین ژنوتیپ C / C غلظت HbA1c کم‌تر از بیماران با ژنوتیپ T / T داشتند (۲۱). در مطالعه‌ای Gloyn و همکاران، هیچ همراهی بین پلی‌مورفیسم C/T و دیابت نوع دو مشاهده نکردند. ژن‌های ABCC8 و KCNJ11 که کد کننده زیرواحدهای گیرنده سولفونیل اوره ۱ (SUR1) هستند و کانال داخلی پتاسیم را کنترل می‌کنند. آن‌ها با مطالعه ۲ هزار و ۴۸۶ مورد از ایالات متحده، ارزیابی کردند که ۸۵۴ مبتلا به دیابت نوع ۲ بودند و آلل E23K در مطالعه مورد شاهدی با دیابت همراه بود. این نتایج تأیید می‌کند که E23K خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ را افزایش می‌دهد و نشان می‌دهد که مطالعات در مقیاس بزرگ برای شناسایی آلل‌های مستعد دیابت مهم است (۲۲).

ازآنجایی‌که مشخص شده است که پلی‌مورفیسم C49620T ژن ABCC8 کد کننده SUR1 است و بدین طریق کانال داخلی پتاسیم را کنترل می‌کند. لذا به نظر می‌رسد که این پلی‌مورفیسم به سبب تغییر در ژن‌های کدکننده زیر واحد کانال پتاسیم ترشح انسولین را کنترل کرده و باعث تعدیل گلوکز خون در دیابت نوع ۲ می‌شود (۱۵).

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-11-04]

هدف از این مطالعه بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم rs7816345 در ژن ABCC8 با احتمال ابتلا به دیابت در جمعیت آذربایجان شرقی بود درصد آلل T نیز در افراد سالم و بیمار به‌ترتیب ۳۷ درصد و ۶۸ درصد و درصد آلل C در افراد سالم و بیمار به‌ترتیب ۶۳ درصد و ۳۲ درصد گزارش شد. آلل T در افراد بیمار بیشترین فراوانی را داشته و نسبت به افراد سالم ۳۱ درصد افزایش نشان می‌دهد. آلل C نیز در افراد سالم بیشترین فراوانی را داشته و نسبت به افراد بیمار ۳۱ درصد کاهش نشان می‌دهد. این مقایسه‌ها نشان می‌دهد که احتمالاً بین این پلی‌مورفیسم و ابتلا به دیابت رابطه وجود داشته باشد. تمامی مطالعات بررسی شده و نتایج حاصل از مطالعه ما انواع پلی‌مورفیسم ها را نشان می‌دهد. این پلی‌مورفیسم‌ها عامل تنوع ژنتیکی و فنوتیپی بین افراد می‌باشند. مقایسه‌ها در این مطالعه نشان می‌دهد که احتمالاً بین پلی‌مورفیسم C49620T در اینترون ژن ABCC8 و ابتلا به دیابت رابطه وجود داشته باشد. بنابراین با مطالعات گسترده‌تر می‌توان به نتایج دقیق‌تر رسید و تشخیص استعداد ابتلا به دیابت را در جمعیت‌های مختلف بررسی کرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی صمیمانه خود را از دانشگاه آزاد اسلامی واحد بناب و تأمین اجتماعی شهرستان بناب بابت همکاری بی دریغشان اعلام می‌دارند.

References:

1. Lin X, Xu Y, Pan X, Xu J, Ding Y, Sun X, et al. Global, regional, and national burden and trend of diabetes in 195 countries and territories: an analysis from 1990 to 2025. Sci Rep 2020;10:1-11.
2. Pearson ER. Dissecting the etiology of type ۲ diabetes in the Pima Indian population. Diabetes 2015;64:3993-5.
3. Carlsson S, Andersson T, Talbäck M, Feychting M. Incidence and prevalence of type 2 diabetes by occupation: results from all Swedish employees. Diabetologia 2020;63:95-103.
4. Go MJ, Hwang J-Y, Park T-J, Kim YJ, Oh JH, Kim Y-J, et al. Genome-wide association study identifies two novel Loci with sex-specific effects for type 2 diabetes mellitus and glycemic traits in a korean population. Diabetes Metab J 2014;38:375-87.
5. Kooshyar MM, Nassiri M, Aslaminezad A, Betaraf M. Feasibility study of SNPs detection associated with breast cancer by genome-wide association virtual studies. J Clin Oncol 2013; 31(15_suppl): e22167-e22167.
6. Schork NJ, Fallin D, Lanchbury JS. Single nucleotide polymorphisms and the future of genetic epidemiology. Clin Genet 2000;58:250-64.
7. Kassem DH, Adel A, Sayed GH, Kamal MM. A Novel SERPINB1 Single-Nucleotide Polymorphism Associated With Glycemic Control and β-Cell Function in Egyptian Type 2 Diabetic Patients. Front Endocrinol 2020 ;11:450.
8. Thomas PM, Cote GJ, Wohllk N, Haddad B, Mathew P, Rabl W, et al. Mutations in the sulfonylurea receptor gene in familial persistent hyperinsulinemic hypoglycemia of infancy. Science 1995;268:426-9.
9. Laukkanen O, Pihlajamäki J, Lindström J, Eriksson J, Valle TT, Hämäläinen H, et al. Polymorphisms of the SUR1 (ABCC8) and Kir6. 2 (KCNJ11) genes predict the conversion from impaired glucose tolerance to type 2 diabetes. The Finnish Diabetes Prevention Study. J Clin Endocrinol Metab 2004;89:6286-90.
10. Stefanski A, Majkowska L, Ciechanowicz A, Frankow M, Safranow K, Parczewski M, et al. The common C49620T polymorphism in the sulfonylurea receptor gene (ABCC8), pancreatic beta cell function and long-term diabetic complications in obese patients with long-lasting type 2 diabetes mellitus. Exp Clin Endocrinol Diabetes 2007;115:317-21.
11. Reis AF, Ye W-Z, Dubois-Laforgue D, Bellanné-Chantelot C, Timsit J, Velho G. Association of a variant in exon 31 of the sulfonylurea receptor 1 (SUR1) gene with type 2 diabetes mellitus in French Caucasians. Hum Genet 2000;107:138-44.
12. Florez JC, Jablonski KA, Kahn SE, Franks PW, Dabelea D, Hamman RF, et al .Type 2 diabetes–associated missense polymorphisms KCNJ11 E23K and ABCC8 A1369S influence progression to diabetes and

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-11-04]

response to interventions in the Diabetes Prevention Program. Diabetes 2007;56:531-6.

13. Vana DR, Adapa D, Prasad V, Choudhury A, Ahuja G. Diabetes mellitus types: key genetic determinants and risk assessment. Genet Mol Res 2019;18:27.
14. Ghanem Y, Ismail A, Elsharkawy R, Fathalla R, El Feky A. Expression of Notch 2 and ABCC8 genes in patients with type 2 diabetes mellitus and their association with diabetic kidney disease. Clin Diabetol ;9(5):306-12.
15. Bonfanti DH, Alcazar LP, Arakaki PA, Martins LT, Agustini BC, de Moraes Rego FG, et al. ATP-dependent potassium channels and type 2 diabetes mellitus. Clin Biochem 2015; 476-82.
16. Khalili M, Nourollahi-Fard S. Detection and genotyping of cutaneous leishmaniasis species in the southeast of Iran: restriction enzyme analysis (RFLP). Tehran Univ Med J 2009;67 (3) :168-72.
17. Shalimova A, Fadieienko G, Kolesnikova O, Isayeva A, Zlatkina V, Nemtsova V, et al. The role of genetic polymorphism in the formation of arterial hypertension, type 2 diabetes and their comorbidity. Curr Pharm Des 2019;25:218-27.
18. Engwa GA, Nwalo FN, Chikezie CC, Onyia CO, Ojo OO, Mbacham WF, et al. Possible association between ABCC8 C49620T polymorphism and type 2 diabetes in a Nigerian population. BMC Med Genet 2018;19:78.
19. Molęda P, Bińczak-Kuleta A, Homa K, Safranow K, Celewicz Z, Syrenicz A, et al. The common C49620T polymorphism in the sulfonylurea receptor gene SUR1 (ABCC8) in patients with gestational diabetes and subsequent glucose metabolism abnormalities. Exp Diabetes Res 2012;2012 .
20. Nikolac N, Simundic A-M, Katalinic D, Topic E, Cipak A, Rotkvic VZ. Metabolic control in type 2 diabetes is associated with sulfonylurea receptor-1 (SUR-1) but not with KCNJ11 polymorphisms. Arch Med Res 2009;40:387-92.
21. Haghverdizadeh P, Haerian MS, Haghverdizadeh P, Haerian BS. ABCC8 genetic variants and risk of diabetes mellitus. Gene 2014;545:198-204.
22. Gloyn AL, Weedon MN, Owen KR, Turner MJ, Knight BA, 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. Diabetes 2003;52:568-72.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-11-04]

Original Article

INVESTIGATION OF C49620T POLYMORPHISM IN ABCC8 GENE IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES IN THE EAST AZERBAIJAN

Shayesteh Joudi Shahabad[1], Hossien Soltanzade [2], Manochehr Ghojaie[3], Fatemeh Hosseinpour Shordarag[4]*

Received: 27 January, 2021; Accepted: 16 October, 2021

Abstract

***Background & Aims*:** Type 2 diabetes is a chronic disease that threatens public health. The disease is on the rise with high complications worldwide. The C49620T variant of the ABCC8 gene is the most common polymorphism associated with type 2 diabetes. The aim of this study was to investigate the association of C49620T polymorphisms of ABCC8 gene with type 2 diabetes in the East Azerbaijan population.

***Materials & Methods*:** A total of 100 blood samples was collected from patients with diabetes and 100 blood samples were also collected from healthy individuals. After DNA extraction from all samples and electrophoresis, the samples were subjected to specific primers, PCR, and electrophoresis. Genotyping was performed using PCR-RFLP method. Finally, PCR products of Pst1 restriction enzyme were treated and electrophoresed again and target polymorphism was observed.

***Results*:** The results showed that the frequency distribution of TT, CC, and CT genotypes in the patient and healthy groups was 26, 52, 22% and 53, 17 and 30%, respectively. The statistical comparison of the frequency of CT genotype between healthy and diabetic individuals was not significant ($p > 0.05$), but there was a significant difference between the frequency of TT and CC in healthy and diabetic individuals ($p < 0.05$). It is noteworthy that the percentage of T allele was 37% and 68% in healthy and diabetic individuals and 63% and 32% in healthy and diabetic individuals, respectively.

***Conclusion*:** The comparisons in this study indicate that there may be a relationship between C49620T polymorphism in the intron of ABCC8 gene and diabetes mellitus. Therefore, more extensive studies can lead to more accurate results and examine the susceptibility to diabetes in different populations.

***Keywords*:** C49620T polymorphism, ABCC8 gene, Diabetes

Address: Department of Biology, Islamic Azad University, Bonab Branch, Bonab, Iran
Tel: +98-41-37401056
Email: Hossien4040@gmail.com

SOURCE: STUD MED SCI 2021: 32(3): 195 ISSN: 2717-008X

[1] *MSc student of genetics, Islamic Azad University, Bonab Branch, Bonab, Iran*
[2] *Assistant Professor, Islamic Azad University, Bonab Branch, Bonab, Iran (Corresponding Author)*
[3] *Assistant Professor, Islamic Azad University, Bonab Branch, Bonab, Iran*
[4] *MSc student of genetics, Islamic Azad University, Bonab Branch, Bonab, Iran*

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-11-04]