KCNJ11 генийн *rs5219* полиморфизмыг чихрийн шижин хэвшинж 2-той холбон судлах нь

Э.Солонго[1],Э.Пүрэвдулам[1], Ш.Эрхэмбаяр[1], Ж.Мөнхцэцэг[1], Т.Буянхүү[1]

[1]АШУҮИС, БАС, Биохимийн тэнхим
Цахим хаяг: Solongo.up20@gmail.com, Утас: 99067284

Түлхүүр үг:

Чихрийн шижин хэв шинж 2
BanII рестрикц
GWAS
KCNJ11 ген
RELP-PCR
rs5219 полиморфизм

Товч утга:

Үндэслэл: Геномтой холбоотой хийгдэж буй (Genome-wide association studies (GWAS)) судалгаануудаас харахад *KCNJ11* генийн зарим полиморфизм нь чихрийн шижин хэвшинж 2-ыг үүсэхэд нөлөөлдөг байна. *KCNJ11* ген нь инсулины ялгаралтыг зохицуулахад оролцдог АТФ мэдрэг калийн сувгийн уураг Kir6.2-ийг кодолдог. *KCNJ11* генийн *rs5219* полиморфизм нь 23-р кодон дээр гуаниныг аденин болгосноор глутамины хүчил лизин аминхүчил болж өөрчлөгдөнө. Ингэснээр инсулины шүүрэл дарангуйлагдаж, цусан дахь глюкозын хэмжээ ихэсч улмаар чихрийн шижин өвчин үүсэх шалтгаан болдог. **Зорилго:** Чихрийн шижин хэвшинж 2-ыг *KCNJ11* генийн *rs5219* полиморфизмтой холбон судлах. **Материал, арга зүй:** Бидний судалгаа тохиолдол-хяналтын судалгааны загвараар хийгдсэн ба ЧШХШ-2-той 52 хүн, харьцангуй эрүүл 52 хүн нийт 104 хүн хамрагдсан. Биохимийн үзүүлэлтүүдийг цусны ийлдэснээс Respons-910 биохимийн бүрэн автомат анализатор ашиглан тодорхойлсон. Бүхэл цуснаас глюкозжсон гемоглобиныг БНСУ-ын "SD A1cCare" хагас автомат анализатораар, геномын ДНХ-г БНХАУ-ын Hualikexi компанийн "Quick Prep Universal Genome DNA Kit" цомог ашиглан ялгасан. *KCNJ11* генийн *rs5219* полиморфизмыг өвөрмөц праймер ашиглан ОХУП-ПГУ-ын (RFLP-PCR) аргаар бай дарааллыг олшруулаад бүтээгдэхүүнийг BanII рестрикцийн эсгэг ашиглан зүсэж, гель электрофорезд гүйлгэн үр дүнг тодорхойлов. Үр дүнгийн статистик боловсруулалтыг SPSS 23.0 программ ашиглан хийсэн. **Үр дүн:** Биохимийн үзүүлэлтүүдээс глюкоз, глюкозжсон гемоглобин, триглицеридийн хэмжээ тохиолдол болон хяналтын бүлэгт статистик ач холбогдол бүхий ялгаатай байв ($p<0.05$). ЧШХШ-2-той хүмүүст К аллель болон КК генотипийн давтамж илүү өндөр байв ($p<0.05$). **Дүгнэлт:** *KCNJ11* генийн *rs5219* полиморфизмын К аллель болон КК генотипийн давтамж тохиолдлын бүлэгт өндөр байгаа нь чихрийн шижин хэвшинж 2-т илүү өртөмхий байж болохыг харуулж байна.

Үндэслэл: Чихрийн шижин өвчин нь дэлхий дахины тулгамдсан асуудлуудын нэг юм. 2019 онд дэлхийн хэмжээнд чихрийн шижингээр өвчлөгсдийн тоо 463 сая байсан бол энэ тоо 2045 онд 700,2 сая хүрнэ хэмээн тооцоолсон байна.[1] Чихрийн шижингийн нийт тохиолдлын 90 хувийг чихрийн шижин хэвшинж-2 эзэлдэг ба олон хүчин зүйлийн нөлөөний улмаас үүсдэг.[2] Эдгээр хүчин зүйлүүдийн нэг нь удамшлын хүчин зүйл юм. Геномтой холбоотой хийгдэж буй (Genome-wide association studies (GWAS)) судалгаануудаас харахад *KCNJ11* генийн зарим полиморфизм нь чихрийн шижин хэв шинж 2-ыг үүсэхэд нөлөөлдөг байна.[3] *KCNJ11* генийн полиморфизм нь үндэстэн болгонд харилцан адилгүй тохиолддог байна. Бразиль, Энэтхэг, Сири, Хятад зэрэг орнуудад хийсэн судалгаагаар *KCNJ11* генийн E23K (*rs5219*) полиморфизм нь чихрийн шижин хэвшинж 2-ыг үүсэхэд нөлөөлдөг байж болзошгүй хэмээн үзжээ.[4,5] Дээрх үндэстнүүдийн адил монголчуудад чихрийн шижин хэвшинж-2 нь *KCNJ11* генийн *rs5219* полиморфизмтой холбоотой байх магадлалтай хэмээн үзэн энэхүү судалгааг хийх үндэслэл боллоо.

Зорилго: Чихрийн шижин хэвшинж 2-ыг *KCNJ11* генийн *rs5219* полиморфизмтой холбон судлах

Материал арга зүй: Бидний судалгаа тохиолдол хяналтын загвараар хийгдсэн. Судалгааны тохиолдлын бүлэгт чихрийн шижин хэвшинж 2-той 52 өвчтөн, хяналтын бүлэгт харьцангуй эрүүл 52 хүнийг хамруулж, нийт оролцогчдоос тайлбарлан таниулсан зөвшөөрлийн хуудсаар зөвшөөрөл авсны дараа өлөн үеийн цусыг хоосон болон ЭДТА бүхий 2 хуруу шилэнд цуглуулав. Хоосон хуруу шилтэй цусны ийлдэснээс ХБНГУ-ын Diasys компанийн "Respons-910" бүрэн автомат анализатороор глюкоз, холестерин, триглицерид, ИНЛП, БНЛП-ын агууламжийг хэмжсэн. Харин ЭДТА бүхий хуруу шилтэй цуснаас глюкозжсон гемоглобиныг БНСУ-ын "SD A1cCare" хагас автомат анализатораар хэмжсэн. Мөн БНХАУ-ын Hualikexi компанийн "Quick Prep Universal Genome DNA Kit" (Cat.№.A0204) цомгийг ашиглан ДНХ-ийг ялгасан. *KCNJ11* генийн *rs5219* полиморфизмыг өвөрмөц праймер ашиглан ОХУП-ПГУ-ын аргаар бай дарааллыг олшруулаад бүтээгдэхүүнийг BanII рестрикцийн эсгэг ашиглан зүсэж, гель электрофорезд гүйлгэн үр дүнг тодорхойлсон. Цуглуулсан мэдээллийг боловсруулахад SPSS 23,0 программ ашиглав.

Үр дүн: Судалгаанд хамрагдсан нийт 104 хүний 44.2% (46) нь эрэгтэй, 55.8% (58) нь эмэгтэй байсан. Биеийн ерөнхий болон биохимийн үзүүлэлтүүдийн давтамжийн дундаж утгыг тохиолдол хяналтын бүлэгт харьцуулж үзэхэд БЖИ, глюкоз, глюкозжсон гемоглобин, триглицеридын хэмжээ статистик ач холбогдол бүхий ялгаатай байв ($p<0.05$). Харин холестерин, ИНЛП, БНЛП-ын хувьд статистик ач холбогдол бүхий ялгаа ажиглагдсангүй ($p>0.05$) (Хүснэгт 1).

Хүснэгт 1. Тохиолдол хяналтын бүлгийн биеийн ерөнхий болон биохимийн үзүүлэлтүүд

Үзүүлэлтүүд	Тохиолдол n=52	Хяналт n=52	P утга
Нас(жил)	45±11	52±14	1.121
БЖИ (кг/м^2)	30.2±6.5	26.7±6.7	**0.007**
Глюкоз (ммоль/л)	12.2±4.2	5.7±2.1	**<0.0001**
HbA1c(%)	9.2±2.2	5.2±0.2	**<0.0001**
Холестерин(ммоль/л)	4.8±1.26	4.7±1.2	0.517
Триглицерид (ммоль/л)	2.7±2.9	1.4±1.06	**0.005**
ИНЛП (ммоль/л)	1.3±0.3	1.4±0.34	0.138
БНЛП (ммоль/л)	2.7±0.7	2.9±0.5	0.129

KCNJ11 генийн *rs5219* полиморфизмын гомозигот КК, гетерозигот ЕК генотип болон генотипийн доминант загварын давтамж нь тохиолдлын бүлэгт илүү өндөр байсан ($p<0.05$). Харин гомозигот ЕЕ, генотипийн рецессив загварын давтамж эрүүл бүлгийн хүмүүст өндөр байсан. К аллель чихрийн шижин хэвшинж 2-т илүү их эрсдэлтэй буюу 5,39 дахин илүүтэй тохиолдож байв (OR=5.39, 95% CI 2.908-9.989, $p<0.05$) (Хүснэгт 2.).

Хүснэгт 2. Тохиолдол болон хяналтын бүлгийг генетик шинжээр харьцуулах нь

	Тохиолдол (%)	Хяналт (%)	OR (95% CI)	P утга
Генотип				
ЕЕ	13(25%)	37 (71.2%)		
ЕК	18(34.6%)	9 (17.3%)	0.175 (0.063-0.487)	0.0005
КК	21(40.4%)	6 (11.5%)	0.100 (0.033-0.303)	<0.0001
Рецессив загвар				
Е/Е	13(25%)	37 (71.2%)		
Е/К+К/К	39(75%)	15 (28.8%)	0.135 (0.056-0.322)	<0.0001
Доминант загвар				
Е/Е+Е/К	31 (59,6%)	46 (88,5%)		
К/К	21 (40,4%)	6 (11,5%)	5.194 (1.881-14.34)	0.0008
Аллель				
Е	44 (42.4%)	83 (79.8%)		
К	60 (57.6%)	21 (20.1%)	5.39 (2.908-9.989)	<0.0001

Хэлцэмж: Бид энэ судалгаагаар ЧШХШ-2-той хүмүүст *KCNJ11* генийн *rs5219* полиморфизм тохиолдож буй эсэхийг судлав. Бидний хийсэн судалгааны үр дүнгээр мутант К аллелийн давтамж хяналтын бүлгээс тохиолдлын бүлэгт илүү өндөр тархалттай буюу 57.6% байсан ($p<0.0001$). Энэ нь ChistiakovDA нарын ОХУ-д ($p=0.023$), Rabbani MJ нарын Ираны хүн амын дунд ($p=0.048$) болон Khan V нарын хойд Энэтхэгийн хүн амд ($p=0.004$) хийсэн судалгаануудын үр дүнтэй дүйж байв.[6-9]

Түүнчлэн КК генотипийн давтамж ЧШХШ-2-той хүмүүст илүү өндөр байсан ($p=<0.0001$). Энэ нь мөн Орос болон Ираны хүн амын дунд хийсэн судалгааны үр дүнтэй ижил байсан.[7,9]

Бидний судалгаагаар *rs5219* полиморфизмын мутант К аллель ЧШХШ-2 үүсэх эрсдлийг 5 дахин ихэсгэж байсан. Харин Сирийн хүн амын дунд 4 дахин, Оросод 2,5 дахин, Хойд Энэтхэг болон Мавританид 2 дахин, Иран болон Хятадын хүн амын дунд 1,5 дахин ихэсгэж байсан.[10,11]

Дүгнэлт: KCNJ11 генийн rs5219 полиморфизмын К аллель болон КК генотипийн давтамж тохиолдлын бүлэгт өндөр байгаа нь чихрийн шижин хэвшинж 2-т илүү өртөмхий байж болохыг харуулж байна.

Ном зүй:

1. *IDF Atlas 9th Edition 2019. 2019.*
2. *Чихрийн шижин хэвшинж 2-ын эмнэлзүйн удирдамж. 2010.*
3. *Ali O. Genetics of type 2 diabetes. World J Diabetes. 2013;4(4):114-123.*
4. *Khan V, Bhatt D, Khan S, et al. Association of KCNJ11 Genetic Variations with Risk of Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) in North Indian Population. 2019.*
5. *Makhzoom O, Kabalan Y, Al-Quobaili F. Association of KCNJ11 rs5219 gene polymorphism with type 2 diabetes mellitus in a population of Syria: a case-control study. BMC medical genetics. 2019;20(1):107.*
6. *Chistiakov DA, Potapov VA, Khodirev DS, Shamkhalova MS, Shestakova MV, Nosikov VV. The KCNJ11 E23K and ABCC8 exon 31 variants contribute to susceptibility to type 2 diabetes, glucose intolerance and altered insulin secretion in a Russian population. Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews. 2008;2(3):185-191.*
7. *Rastegari A, Rabbani MJ, Sadeghi HMM, Faghihimani E, Hasanzadeh A, Moazen F. Association of KCNJ11 (E23K) gene polymorphism with susceptibility to type 2 diabetes in Iranian patients. Advanced biomedical research. 2015;4:1.*
8. *Khan V, Verma AK, Bhatt D, et al. Association of Genetic Variants of KCNJ11 and KCNQ1 Genes with Risk of Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) in the Indian Population: A Case-Control Study. International journal of endocrinology. 2020;2020:5924756.*
9. *Nikitin AG, Potapov VY, Brovkina OI, et al. Association of polymorphic markers of genes FTO, KCNJ11, CDKAL1, SLC30A8, and CDKN2B with type 2 diabetes mellitus in the Russian population. PeerJ. 2017;5:e3414-e3414.*
10. *Abdelhamid I, Lasram K, Meiloud G, et al. E23K variant in KCNJ11 gene is associated with susceptibility to type 2 diabetes in the Mauritanian population. Primary care diabetes. 2014;8(2):171-175.*
11. *Li YY. The KCNJ11 E23K gene polymorphism and type 2 diabetes mellitus in the Chinese Han population: a meta-analysis of 6,109 subjects. Molecular biology reports. 2013;40(1):141-146.*

Association of *KCNJ11* gene *rs5219* polymorphism with type 2 Diabetes mellitus

E.Solongo[1], E.Purevdulam[1], Sh.Erkhembayar[1], J.Munkhtsetseg[1], T.Buyankhuu[1]

[1]Department of biochemistry, School of Bio-Medicine, MNUMS
Email: Solongo.up20@gmail.com, Tel: 99067284

Introduction: Genome-wide association studies (GWAS) have shown that some polymorphisms in the *KCNJ11* gene contribute to the development of type 2 diabetes. ATP-sensitive potassium (KATP) channels play a key role in insulin secretion from pancreatic beta cells. Beta cell KATP channel is composed of pore subunits Kir6.2 (*KCNJ11*). *KCNJ11* rs5219 polymorphism is caused by a switch of guanine to adenine at codon 23, resulting in a glutamic acid to lysine amino acid substitution and thereby a critical inhibition of glucose-induced insulin secretion.

Objective: Determine the association between the *KCNJ11* gene *rs5219* polymorphism and type 2 diabetes mellitus

Materials and Methods: This study was designed as a case-control study. In the case group, 52 individuals with type 2 diabetes mellitus (T2DM) were selected, and in the control group, 52 individuals were considered healthy according to certain criteria. Biochemical analyses were measured using a fully automatic analyzer 'Respons-910' from the German company Diasys. Blood glycated hemoglobin (HbA1c) from EDTA was measured with a semi-automatic SD A1cCare analyzer. DNA was extracted according to the accompanying protocol using “Quick Prep Universal Genome DNA Kit” (Cat.№. A0204) by Hualikexi, China. *KCNJ11* gene *rs5219* polymorphism was defined using a unique primer to amplify and the target sequence defined by the restriction fragment length polymorphism-PCR method. Amplified DNA were digested using BanII restriction enzyme. The digested products were determined by 3% gel electrophoresis with ethidium bromide. SPSS 23.0 was used to process the collected data.

Results: Significant differences were observed for fasting plasma glucose, HbA1c and triglyceride ($p<0.05$). The frequency of KK genotype and K allele was higher in the case group than the control group ($p <0.05$).

Conclusion: The high frequency of K alleles and KK genotypes of the *KCNJ11* gene *rs5219* polymorphism in the case group suggests that they may be more susceptible to type 2 diabetic mellitus.

Keyword: Type 2 diabetes mellitus, BanII enzyme, GWAS, *KCNJ11* gene, RELP-PCR, rs5219 polymorphism.