مقاله پژوهشی

بررسی واریانت (rs 5219) از ژن KCNJ11 در بیماران مبتلا به دیابت بعد از پیوند کبد

زهرا پرویزی[1*]، نگار آذرپیرا[2]، لیلا کهن[1]، کورش کاظمی[3]، محمد مهدی پرویزی[4]

۱- گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، ارسنجان، ایران.
۲- مرکز تحقیقات پیوند و ترمیم اعضاء بیمارستان نمازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.
۳- بخش جراحی پیوند و ترمیم اعضاء بیمارستان نمازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.
۴- مرکزتحقیقات طب سنتی و تاریخ طب، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۰۹/۱۴ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۱۰/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: ابتلا به دیابت در گیرندگان پیوند کبد یکی از مشکلات رایج در این بیماران بوده که دارای تأثیر منفی در موفقیت پیوند و حیات بیمار می‌باشد. دیابت پس از پیوند (PTDM) از نظر پاتوفیزیولوژی، بالینی و ژنتیکی با دیابت نوع ۲ شباهت‌های زیادی دارد. یکی از ژنوتیپ‌های دخیل در ایجاد PTDM، rs۵۲۱۹ در ژن KCNJ11 می‌باشد که در عملکرد سلول‌های بتا دخیل بوده و اثر تنظیم کننده بر کانال پتاسیمی حساس به ATP دارد. هدف از این مطالعه، بررسی ارتباط میان این پلی مورفیسم و دیابت پس از پیوند کبد در یک جمعیت ایرانی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه، یک مطالعه مورد شاهدی می‌باشد که بر روی ۱۲۰ بیمار دریافت کننده پیوند کبد (۶۰ بیمار مبتلا و ۶۰ بیمار غیر مبتلا به دیابت پس از پیوند) انجام گرفته است. نمونه گلبول‌های سفید از بانک سلولی مرکز تحقیقات پیوند اعضا بیمارستان نمازی شیراز از بیمارانی که در سال‌های ۱۳۹۰-۱۳۸۶ پیوند کبد دریافت کرده‌اند انتخاب شده است. فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف در این افراد با روش PCR-RFLP تعیین گردیده است. برای بیان نتایج از شاخص‌های پراکندگی و تست‌های آماری پارامتری استفاده شد.

نتایج: آنالیز آماری نشان می‌دهد که اختلاف معناداری بین فراوانی آللی و ژنوتیپی در دو گروه بیمار و کنترل وجود دارد و ژنوتیپ KK با (p= ۰/۰۰۱) و (۷/۶-۱/۶۰)CI٪۹۵،OR=۱/۱۹ ریسک ابتلا به PTDM را افزایش می‌دهد.

نتیجه گیری: در این مطالعه بین بروز دیابت پس از پیوند با جنس، سن، دوز پردینوزولون، پلی مورفیسم KCNJ11 و ژنوتیپ KK ارتباط وجود داشت.

کلمات کلیدی: KCNJ11، rs۵۲۱۹، دیابت پس از پیوند کبد، پیوند کبد

مقدمه

درسال‌های اخیر پیشرفت‌های بسیاری در زمینه علم پزشکی به خصوص پیوند اعضاء صورت گرفته است که امیدهای فراوانی را در بیماران نیازمند ایجاد نموده ا ست (۱). امروزه پیوند کبد به عنوان یک روش درمانی مورد قبول در مراحل نهایی بیماری و نار سایی کبد می‌با شد که به طور بالقوه، برای هر شرایط حاد یا مزمن که منجر به اختلال در عملکرد برگشت ناپذیر کبد شود، می‌تواند انجام گیرد (۴-۲). شایع ترین عامل مشکلات کبدی در ایالات متحده آمریکا مصرف مشروبات الکلی و در کشور ما ایران ابتلا به ویروس‌های هپاتیت B، C وD می‌با شد که البته در صدی از آن‌ها به دلیل هپاتیت مزمن به سیروز ختم می‌شود. ویروس هپاتیت B احتمالاً شایع‌ترین علت بروز سیروز در دنیاست (۵).

به دنبال پیوند عوارض طبی متعددی ایجاد می‌شود که عمدتاً مربوط به داروهای سرکوب کننده ایمنی می‌باشد. از جمله

*نویسنده مسئول: زهرا پرویزی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، ارسنجان، ایران. تلفن:۰۷۱-۳۸۳۱۱۳۱۷، Email:zparvizi@gmail.com

این عوارض می‌توان از دیابت قندی جدید نام برد (۴، ۶). در مطالعات انجام شده شیوع دیابت بعد از پیوند کبد ۲/۵ تا ۲۵٪ گزارش گردیده است (۷). در اکثر بیماران، دیابت پس از پیوند، در سه ماه اول پس از پیوند ایجاد می‌گردد. محققین دلیل این امر را دوز بالای داروهای سرکوب کننده ایمنی در ماه‌های اول پس از پیوند و اثرات توکسیک بیشتر یا ایمونوساپرشن بیشتر و به دنبال آن عفونت‌های مختلف می‌دانند (۴). ویژگی‌های بالینی PTDM شبیه به دیابت نوع ۲ است، با این وجود، بحث بر سر عوامل اصلی بروز PTDM باقی است (۸) و تاکنون هیچ عامل خطر مشخصی برای این بیماری تعیین نشده است اگر چه نقش عملکرد سلول بتا (β) نسبت به مقاومت انسولین، عامل تأثیرگذار مهم‌تری در ایجاد PTDM به نظر می‌آید اما بر اساس مطالعات انجام شده برخی از پارامترهای بالینی مانند نژاد، افزایش سن، سابقه خانوادگی، چاقی، جنس گیرنده پیوند، جنس دهنده پیوند، HLA، ابتلا به هپاتیت‌های ویروسی به ویژه هپاتیت C و استفاده از سرکوب کننده‌های سیستم ایمنی را در ابتلا به این بیماری دخیل دانسته‌اند (۱۲-۶).

شواهدی از تمایل ژنتیکی به دیابت در بروز PTDM دیده شده است که در این میان ارتباط گونه‌های ژنتیکی مرتبط با دیابت نوع دو و ابتلا به PTDM بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسم‌های مرتبط با دیابت، روشی ممکن برای پیش بینی ریسک بروز PTDM در بیمار است. در میان ژن‌های مستعد کننده دیابت، ژن *KCNJ11* توجه زیادی را به خود جلب کرده است (۱۳). ژن *KCNJ11* متعلق به خانواده‌ای از ژن‌ها بنام *KCN* (کانال‌های پتاسیمی) است و دستورالعمل ساخت زیر واحدهای کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP (KATP) را فراهم می‌کند. کانال های KATP از ۲ زیر واحد ساختاری و تنظیمی تشکیل شده است (۱۴، ۱۵). ژن *KCNJ11* زیر واحد پروتئین kir6.2 کانال پتاسیمی حساس به ATP (KATP) را رمزدهی می‌کند که به دلیل نقش اساسی آن در ترشح انسولین توجه زیادی را به خود جلب نموده است (۱۶). این ژن روی بازوی کوچک (P) از کروموزوم ۱۱ در جایگاه ۱۵,۱ قرار گرفته‌اند (۱۴، ۱۸-۱۶) و ژن ۱۶ اگزون داشته و ۳۹۰ اسید آمینه را کد گذاری می‌کند و در رپلاریزاسیون سلول اندوکرین و اگزوکرین پانکراس بیان می‌شود (۱۹). قسمت ساختاری این کانال که حفره کانال را به وجود می‌آورد توسط زیر واحد kir6.2 ژن *KCNJ11* کد می‌شود (۱۳، ۱۶، ۱۷ و ۱۹) و در مطالعاتی که انجام گرفته نشان داده شده است که کاهش پروتئین kir6.2 به اختلال عملکرد سلول‌های بتا کمک می‌کند (۱۴).

پلی مورفیسم rs۵۲۱۹ در ژن *KCNJ11* با خطر ابتلا به دیابت پس از پیوند در ارتباط است. یک شکل شامل لیزین ۲۳، باز شدن کانال از طریق ATP را افزایش داده و حساسیت کانال را در مهار ATP در مقایسه با گلوتامین ۲۳ افزایش می‌دهد. E۲۳K می‌تواند با تغییر دادن عکس العمل کانال، به تنوع نوکلئوتیدهای سیتوزولی شرایط را برای ابتلا به دیابت نوع ۲ مستعد کند که این در بیماران دارای K۲۳ تحت درمان با تاکرولیموس می‌تواند منجر به ترشح اجباری مقدار زیاد انسولین و متعاقباً سرکوب نسخه برداری و توقف ترشح انسولین با شد (۱۸، ۱۹).

در تحقیقات انجام گرفته مشخص شده که *KCNJ11* یک ژن پاتولوژیک در سراسر دنیاست (۱۴). در این بررسی همراهی پلی مورفیسم rs۵۲۱۹ از ژن *KCNJ11* با خطر بروز دیابت پس از پیوند کبد مورد مطالعه قرار گرفته شده است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به صورت مورد- شاهدی انجام شده است. تعداد ۱۲۰ نمونه پیوند کبد برای این تحقیق انتخاب شد. با توجه به اینکه شیوع دیابت بعد از پیوند ۱۰٪ می‌باشد این تعداد بیمار بعد از مطالعه پرونده بیماران متجاوز بر ۴۰۰ بیمار جمع آوری شده است. قدرت مطالعه محاسبه شده برای مطالعه فوق ۸۰٪ می‌باشد و به دلیل اینکه پیوند کبد در ایران تنها در بیمارستان نمازی شیراز انجام می شود، نمونه‌های انتخاب شده از سراسر ایران بودند. تعداد ۶۰ نمونه مبتلا به دیابت بعد از پیوند بودند و ۶۰ نمونه‌ی دیگر افرادی که پس از پیوند به دیابت مبتلا نشده بودند. از بیماران رضایت کتبی اخذ گردید و مطالعه مذبور مورد تأیید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شیراز می‌باشد. نمونه گلبول‌های سفید افراد گیرنده پیوند کبد در مطالعه حاضر، از بانک نمونه‌ی پیوند مرکز تحقیقات پیوند اعضا بیمارستان نمازی شیراز در فاصله زمانی سال‌های ۱۳۹۰-۱۳۸۶ انتخاب شده است.

اطلاعات مورد نیاز بیماران از پرونده‌های پزشکی موجود در بخش هماهنگی پیوند بیمارستان نمازی مطالعه شد. مقدار ۲ میلی لیتر خون از افراد مورد نظر در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA ریخته و بافی کوت از خون جدا می‌شود. استخراج DNA از بافی کوت خون با استفاده از کیت DNP™ (سیناژن) و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. قسمتی از ژن *KCNJ11* که حاوی محل پلی مورفیسم مورد بررسی بود، با استفاده از تکنیک PCR تکثیر شد. انتخاب پرایمر بر حسب مطالعات قبلی انجام شد (۲۰) و ویژگی و کیفیت آن از طریق برنامه‌ی Blast مورد بررسی قرار گرفت. پرایمرهای مورد استفاده شامل پرایمر KCN-F: 5' GACTCTGCAGTGAGGCCCTA 3' و KCN-R:5' ACGTTGCAGTTGCCTTTCTT 3' می‌باشد. دستورالعمل مورد استفاده جهت تهیه مخلوط PCR شامل ۲/۵ مولار بافر، ۰/۷۵ مولار $MgCL_2$، ۰/۷۵ مولار dNTPs، ۰/۵ مولار آنزیم Taq، ۹/۵ مولار آب مقطر دوبار تقطیر ساخت شرکت سیناژن ایران، ۰/۵ مولار Primer F.، ۰/۵ مولار Primer R. ساخت شرکت فضا بیوتک کانادا و در نهایت ۱۰مولار DNA بود. برنامه زمانی واکنش عبارت است از: دناتوراسیون اولیه با دمای ۹۴ °C به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ چرخه تکرار شامل: دناتوراسیون اولیه با دمای ۹۴ °C به مدت ۴۵ ثانیه جهت واسرشت سازی دو رشته DNA، ۶۱ °C به مدت ۱ دقیقه جهت اتصال پرایمر به DNA و ۷۲°C به مدت ۱ دقیقه برای طویل شدن. پس از اتمام ۳۵ چرخه، مخلوط واکنش به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ °C باقی ماند تا عمل طویل شدن نهایی انجام شود.

برای تشخیص پلی مورفیسم در این قطعه پس از انجام PCR به محصولات آنزیم *ECO24I(BanII)* اضافه شد. این آنزیم با توجه به ناحیه پلی مورفیسم از سایت NEBCutter انتخاب شد. محصول هضم بر روی ژل آگاروز ۳٪ الکتروفورز و با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی و مشاهده شد. برای تایید نتایج PCR-RFLP پلی مورفیسم (rs۵۲۱۹)، ۲ نمونه از محصولات PCR به همراه دو پرایمر Forward و Reverse برای توالی یابی، به شرکت فضا بیوتک فرستاده شد که نتایج PCR-RFLP را اثبات نمود.

تجزیه و تحلیل آماری: در نهایت اطلاعات دموگرافیک بیماران و نتایج به دست آمده از PCR-RFLP وارد برنامه نرم افزاری SPSS نسخه ۱۸ شد. برای توصیف نتایج از فراوانی، درصد، میانگین و انحراف معیار و برای تحلیل نتایج از تست‌های آزمون

جدول شماره ۱- خصوصیات دموگرافیک بیماران مورد مطالعه

		بیمار تعداد(درصد)	کنترل تعداد(درصد)	p-value
تعداد کل		۶۰	۶۰	-
جنس گیرنده پیوند	مرد	۳۱(٪۵۱/۷)	۳۸(٪۶۳/۳)	p=۰/۱۳۴
	زن	۲۹(٪۴۸/۳)	۲۲(٪۳۶/۷)	
سن گیرنده پیوند		۴۵/۶۰±۱۲/۵۹	۳۲/۸۸± ۱۷/۰۶	p<۰/۰۰۱
جنس دهنده پیوند	مرد	۵۰(٪۸۳/۳)	۳۸(٪۶۳/۳)	p = ۰/۰۱۱
	زن	۱۰(٪۱۶/۷)	۲۲(٪۳۶/۷)	
سن دهنده پیوند		۳۷/۳۵±۱۴/۰۴	۲۷/۶۱± ۱۱/۵۵	p<۰/۰۰۱
گروه خونی	A	۱۹(٪۳۱/۷)	۲۳(٪۳۸/۳)	p = ۰/۱۱۵
	B	۱۴(٪۲۳/۳)	۲۲(٪۳۶/۷)	
	AB	۵(٪۸/۳)	۴(٪۶/۷)	
	O	۲۲(٪۳۶/۷)	۱۱(٪۱۸/۳)	
شاخص توده بدنی		۲۴/۰۰۹ ±۳/۵۰	۲۱/۰۴±۵/۲۵	p=۰/۰۳۶

T، مجذور کای، ضریب همبستگی پیرسون، رگرسیون لوجستیک و آزمون فیشر استفاده شد. P<0.05 معنی دار در نظر گرفته شد. تعیین انحراف از تعادل هاردی وینبرگ، با اســـتفاده از نرم افزار Arlequin انجام شد.

نتایج

از ۶۰ بیمار مبتلا به دیابت پس از پیوند ۳۱ بیمار یعنی (۵۱/۷٪) مرد و ۲۹ (۴۸/۳٪) زن بودند. از ۶۰ بیمار گروه کنترل ۳۸ مورد (۶۳/۳٪) مرد و ۲۲ بیمار (۳۶/۷٪)زن بودند. این مطالعه و شاخص MELD در افراد مورد مطالعه مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که استفاده از داروهای استروئیدی نظیر پردنیزولون خطر ابتلا به این بیماری را افزایش می‌دهد (جدول شماره ۳). همچنین در این مطالعه از میان بیماری‌های منجر به پیوند کبد، تنها تعداد بیماران مبتلا به هپاتیت‌های ویروسی در گروه افراد مبتلا به دیابت پس از پیوند کبد، در مقایسه باگروه کنترل، به طور معناداری بیشتر بود (p=/۰۲)

مح صولPCR ، قطعه‌ای حاوی ۲۱۰ جفت باز می‌با شد. بعد

جدول شماره ۲- خصوصیات بیوشیمیایی بیماران مورد مطالعه

متغیر	زمان بررسی	بیمار	کنترل	p-value
سطح سرمی گلوکز پلاسمایی ناشتا	قبل از پیوند	۹۲/۴۲± ۱۵/۶۵	۸۳/۳±۱۸/۴۹	p= ۰/۰۲
	یک ماه پس از پیوند	۱۶۱/۴۳± ۶۴/۶۶	۸۹/۹۳± ۱۶/۸۵	p<۰/۰۰۱
	شش ماه پس از پیوند	۱۳۹/۲۲±۶۹/۴۳۳	۸۸/۵۰±۱۲/۹۰	p<۰/۰۰۱
سطح سرمی تری گلیسرید	قبل از پیوند	۱۰۰/۲± ۵۸/۶۷	۹۲/۶۵±۴۸/۷۰	p = ۰/۴۵
	یک ماه پس از پیوند	۲۰۶/۸۱±۹۴/۰۷	۱۶۹/۸۸±۷۹/۹۰۱	p=۰/۰۲
	شش ماه پس از پیوند	۱۶۴/۸۳±۹۸/۳۲۱	۱۳۰±۶۴/۴۹	p=۰/۰۲
سطح سرمی کلسترول	قبل از پیوند	۱۳۷/۰۳±۴۹/۰۷	۱۴۲/۴۳±۷۹/۲۷	p=۰/۶۵
	کلسترول یک ماه پس از پیوند	۱۸۸/۲۵±۵۸/۰۱	۱۶۳/۷۸± ۴۶/۴۶	p=۰/۰۱
	کلسترول شش ماه پس از پیوند	۱۸۳/۴۵±۱۰۹/۳۰	۱۵۰/۵±۵۲/۲۸	p=۰/۰۴
سطح سرمی HDL	قبل از پیوند	۴۲/۶۰± ۳۴/۳۶	۴۸/۴۱± ۲۷/۶۹	p=۰/۴۵
	HDL یک ماه پس از پیوند	۴۳/۹۳±۱۵	۴۹/۶۸± ۲۲/۴۸	p=۰/۲
	HDL شش ماه پس از پیوند	۴۴/۱۹±۱۳/۰۲	۴۳/۶۵±۲۱/۳۳	p=۰/۸۹
سطح سرمی LDL	LDL قبل از پیوند	۷۵/۶۹±۳۲/۳۸	۹۵/۱۱±۵۴/۸۹	p=۰/۶۷
	یک ماه پس از پیوند	۹۵/۶۲±۳۸/۰۸	۹۵/۱۱±۵۴/۸۹	p=۰/۸۹
	LDL شش ماه پس از پیوند	۱۱۰/۷۶±۹۶/۹۱	۹۸/۴۶±۶۱/۴۵	p=۰/۵۱

نشان دهنده ارتباط بروز PTDM در بیماران مورد مطالعه با جنس مرد در دهنده پیوند، سن بالا در گیرنده و دهنده پیوند و شاخص توده بدنی است (جدول شماره ۱). همچنین بررسی نتایج افراد مورد مطالعه نشان دهنده ارتباط میان بروز PTDM و افزایش میزان سطح سرمی قند خون ناشتا، افزایش سطح سرمی تری گلیسرید و افزایش سطح سرمی کلسترول می‌باشد (جدول شماره ۲). ارتباط بروز دیابت پس از پیوند کبد با میزان دوز مصرفی دارو

از هضـــم با آنزیم م حدود کن نده(ECO24I(BanII ، ژنوت یپ هموزیگوتKK ، بـه قطعـات ۱۵۰ bp و ۶۰ bp و ژنوتیـپ هتروزیگوت EK بـه قطعـات ۳۲bp bp + ۱۷۸ و bp+۶۰bp ۱۵۰شکسته می‌شود (شکل شماره۱).

جهت بررسی ارتباط بین ژنوتیپ‌ها و خطر ابتلا به دیابت پس از پیوند، نحوه توزیع ژنوتیپ ها در دو گروه کنترل و بیمار مورد بررسی قرار گرفت که در جدول شماره ۴ نشان داده شده است.

جدول شماره ۳- میزان دوز مصرفی دارو و شاخص MELD در افراد مورد مطالعه

متغییر	بیمار	کنترل	p-value
عدد MELD	۲۰/۸۷ ±۵/۴۳	۲۰/۹۴±۵/۴۶	p=۰/۹۴
متوسط دوز مصرفی تاکرولیموس	۳/۱۵ ± ۱/۴۳	۳/۳۴±۱/۲۴	p=۰/۴۳
متوسط دوز مصرفی Cellept	۱/۹۰ ±۱/۱۴	۲/۰۷±۱/۸۶	p=۰/۵۶
متوسط دوز مصرفی پردنیزولون	۱۱/۲۷ ±۴/۱	۹/۳۳±۳/۳۲	p=۰/۰۱

جدول شماره ۴- نتایج حاصل از ارتباط ژنوتیپ افراد مورد مطالعه با بروز دیابت پس از پیوند

		بیمار تعداد (درصد)	کنترل تعداد (درصد)	OR(95%CI)	p-value
تعداد کل		۶۰	۶۰	-	-
توالی ژنوتیپ ژن KCNJ11	KK	۳۱(٪۵۱/۷)	۱۴(٪۲۳/۳)	۱/۱۹ (۱/۶۰-۷/۶)	p = ۰/۰۰۱
	EE	۱۱(٪۱۸/۳)	۳۰(٪۵۰)	۰/۲۲۴ (۰/۰۹-۰/۵۱)	p< ۰/۰۰۱
	EK	۱۸(٪۳۰)	۱۶(٪۲۶/۷)	۱/۱۷ (۰/۵۳-۲/۶)	p = ۰/۴۲

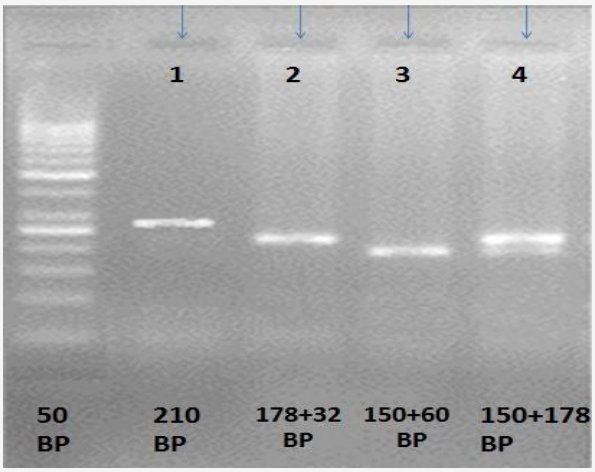
بحث و نتیجه گیری

ابتلا به دیابت در گیرندگان پیوند کبد مشکلی رایج در این بیماران است که تأثیر منفی در موفقیت پیوند و حیات بیمار دارد. اگر چه تکنیک‌های مدرن جراحی و استفاده از داروهای سرکوب کننده سیستم ایمنی ارتقاء یافته است، اما شیوع دیابت پس از پیوند همچنان رقم بالایی را به خود اختصاص می‌دهد. شناسایی بیماران در معرض خطر بالای ابتلا به دیابت پس از پیوند به منظور جلوگیری از این بیماری و بهبود پیش آگهی طولانی مدت این بیماری پس از پیوند کبد مفید است (۲۱).

مطالعات متعدد نقش ژنوتیپ‌های مختلفی را در بروز دیابت پس از پیوند بیان نموده است که یکی از این ژنوتیپ ها rsKCNJ11۵۲۱۹ می‌باشد که در عملکرد سلول‌های بتا دخیل بوده و اثر تنظیم کننده بر کانال پتاسیمی حساس به آدنوزین تری فسفات (KATP) دارد. کانال‌های KATP توسط تنظیم سوخت و ساز بدن و فعالیت الکتریکی فرآیندهای غشایی، ترشح انسولین را کنترل می‌کنند (۱۵، ۱۷).

در مطالعاتی که توسط Sarno و همکارانش (۲۲)، Kurzawski (۲۳)، Jaworsky (۲۴)، Madziarska و همکاران(۱۱) انجام گرفت، افزایش شیوع بیماری دیابت پس از پیوند، در زنان را نسبت به مردان اثبات کرده‌اند که علت آن را ازدیاد بافت چربی در زنان نسبت به مردان و احتمالاً چاقی را عامل خطر مهمی برای ابتلا به دیابت در زنان دانسته‌اند. در مقابل، در مطالعه‌ای که توسط شهبازی و همکارانش انجام شد، بروز دیابت پس از پیوند در مردان بیشتر از زنان دیده شد (۴). در نتایج حاصل از پژوهش حاضر، میان بروز دیابت پس از پیوند در بین زنان و مردان تفاوت معناداری یافت نشد، اما ارتباط معناداری بین جنس در دهنده پیوند و دیابت پس از پیوند وجود داشت و بروز دیابت پس از پیوند در گیرندگان پیوند از مرد بیشتر از بروز دیابت پس از پیوند در گیرندگان پیوند از دهنده زن بود.

با افزایش سن، عدم تحمل گلوکز و مقاومت نسبت به انسولین افزایش می‌یابد و به همان نسبت خطر ابتلا به دیابت



شکل شماره ۱: الکتروفورز محصول هضم شده PCR با آنزیم BanII بر روی ژل آگاروز ۳٪: اولین چاهک سمت چپ DNA Ladder 50bp، چاهک شماره ۱ محصول PCR حاصل از تکثیر موفق ژنی. چاهک شماره ۲ در صورتی که فرد هموزیگوت و آلل از نوع K باشد، طول قطعه ژن به bp ۱۷۸ و bp ۳۲ شکسته می‌شود. چاهک شماره ۳ در صورتی که فرد هموزیگوت و آلل از نوع E باشد، طول قطعه ژن به bp ۱۵۰ و bp ۶۰ شکسته می‌شود، در صورتی که فرد هتروزیگوت و آلل از نوع EK باشد، طول قطعه ژن به bp ۳۲bp+ ۱۷۸ و bp ۶۰+bp ۱۵۰شکسته می‌شود.

پس از پیوند، بیشتر می‌شود. در مطالعاتی که توسط Ling و همکاران (۲۵)، ollech و همکاران (۲۶)، رازقی و همکاران (۲۷) و همچنین در متاآنالیزی که توسط HUCA (۱۹) انجام گرفت، نشان می‌دهد که با افزایش سن، ریسک ابتلا به دیابت پس از پیوند نیز افزایش می یابد. نتایج حاصل از پژوهش حاضر، با مطالعات قبل مشابه بوده و میانگین سنی در گروه مبتلا به دیابت پس از پیوند، به طور معنی داری بیشتر از میانگین سنی در گروه کنترل بود.

داشتن سن بالا در اهداء کنندگان عضو، دارای اثرات منفی بر میزان بقای گیرندگان پیوند است. در مطالعه‌ای که توسط Madziarska و همکاران (۱۱) انجام گرفت، میان سن بالاتر اهداءکننده و بروز دیابت پس از پیوند رابطه معناداری یافت شد. در تحقیق حاضر نیز مشخص شد که با افزایش سن اهداء کننده پیوند، بروز دیابت پس از پیوند افزایش می‌یابدکه نتایج حاصله، با نتایج مطالعه Madziarska هماهنگ می‌باشد. اضافه وزن به عنوان ریسک فاکتورهای ایجاد دیابت پس از پیوند می‌باشد که منجر به مقاومت انسولین شده و موجب ابتلا به این بیماری می‌شود. مهمترین عامل این افزایش مقاومت، چربی‌های اضافی بدن هستند. در مطالعاتی که توسط Sarno و همکارانش (۲۲)، Kama و همکاران (۲۸)، سیفی و همکاران (۱۲)، بین شاخص توده بدنی و ابتلا به دیابت پس از پیوند تفاوت معناداری یافت شد و در مقابل در مطالعه‌ای که توسط Ahn انجام گرفت، بین شاخص توده بدنی و دیابت پس از پیوند تفاوت معناداری یافت نشد (۹). در پژوهش حاضر، با افزایش شاخص توده بدنی میزان ابتلا به دیابت پس از پیوند، افزایش یافت.

در مطالعه‌ای که توسط Kamar و همکاران انجام شد، بین اختلال در قند ناشتای قبل از پیوند و بروز دیابت پس از پیوند کلیه ارتباط معناداری مشاهده شد (۲۸). در مقابل در مطالعه‌ای که توسط Ahn انجام شد، میان سطح گلوکز پلاسمای ناشتا در زمان پیوند کبد ارتباط معناداری یافت نشد (۹). در مطالعه حاضر، بالا بودن سطح پلاسمایی گلوکز ناشتا قبل از پیوند کبد با بروز دیابت پس از پیوند کبد رابطه معناداری را نشان داد.

تاکرولیموس یکی از داروهای سرکوب کننده ایمنی می‌باشد. اثر دیابتوژنی تاکرولیموس عمدتاً از طریق کاهش ترشح انسولین توسط سلول های بتا ناشی می‌شود. در مطالعه‌ای که توسط Kamar و همکاران (۲۸)، Madziarska و همکاران (۱۱) انجام گرفت، میان مصرف تاکرولیموس و ریسک ابتلا به دیابت پس از پیوند ارتباط معنادار وجود داشت. در مقابل، در مطالعه‌ای که توسط Tavira انجام شد (۱۹)، ارتباط معناداری بین دوز و سطح سرمی تاکرولیموس در ماه‌های اول، ششم و دوازدهم پس از پیوند با بروز دیابت پس از پیوند مشاهده نشد که این نتیجه نیز با نتیجه مطالعه حاضر موافق می‌باشد.

مصرف کورتیکواستروئیدها باعث افزایش مقاومت به انسولین و بروز دیابت پس از پیوند می‌شود. در مطالعه‌ای که توسط سیفی و همکاران انجام شـد، ارتباط معناداری میان ابتلا به دیابت پس از پیوند با دوز کورتیکوا ستروئید درمانی م شاهده ن شد (۱۲). در مقابل، در مطالعه‌ای که توسـط Sakamoto و همکاران (۲۹) و Kurzawski (۲۳) انجام شـد، میان دوز کلی اسـتروئید و ابتلا به دیابت پس از پیوند، ارتباط معناداری مشـاهده شـد. در پژوهش حا ضر با افزایش دوز ا ستروئید میزان ابتلا به دیابت پس از پیوند افزایش یافت.

ژن *KCNJ11* پروتئین kir6.2 را کد گذاری می‌کند که برای فعالیت کانال پتاسـیم در سـلول‌های بتای لوزالمعده به منظور ترشح انسولین ضروری است. ایزوفرم حاوی لیزین ۲۳، باز شدن کانال پتاسیم را افزیش داده و حساسیت آن را نسبت به اثر مهار کننده ATP در مقایسـه با گلوتامین ۲۳ افزایش می‌دهد. این مسـأله نشـان می‌دهد که E۲۳K می‌تواند با تغییر دادن عملکرد کانال، شرایط را برای ابتلا به دیابت پس از پیوند م ستعد سازد (۱۵، ۳۰ و ۳۱).

در متا آنالیزی که توسـط بیمارسـتان مرکزی دانشـگاه Versity آسـتوریاس و Tavira انجام شـد، ارتباط معنا داری بین پلی مورفیسـم rs۵۲۱۹ در ژن *KCNJ11* با بروز دیابت پس از پیوند یافت شـد (۱۹). همچنین در مطالعه‌ای که توسـط Yang انجام شـد میزان بروز دیابت پس از پیوند را با وجود آلل K در افراد مرتبط دانسـته اسـت (۳۲). Yang میان حاملان لیزین در پلی مورفیسم E۲۳K در ژن *KCNJ11*، نقص در ترشح انسولین و در نتیجه بروز دیابت پس از پیوند ارتباط معنی داری را یافت (۱۵). درمطالعه‌ای که توسط قاسمی و همکاران انجام شد ارتباط معناداری بین بروز دیابت در افراد چاق و ژنوتیپ KK یافت شد (۱۶). در مطالعه‌ای که توسـط Jaworsky انجام گرفت، ارتباط معناداری میان وجود آلل K در ژن KCJN11 و بروز دیابت پس از پیوند نشـان داده شـد (۲۴). در پژوهش حاضـر، میزان بروز دیابت پس از پیوند در افرادی که دارای ژنوتیپ KK می‌باشند به طور معنا داری بی شتر از افراد فاقد ژنوتیپ KK می‌با شد که این نتایج مشابه با نتیجه مطالعات قبل بود.

تفاوت در نتایج مطالعات می‌تواند ناشـی از تفاوت در تعداد نمونه‌ها، تفاوت در روش اجرا، تفاوت در روش‌های نمونه‌گیری و همچنین تفـاوت در ویژگی‌هـای قومیتی و نژادی در منـاطق مختلف دنیا باشد.

با توجه به نتایج مطالعه انجام شـده، از جمله عوامل مؤثر در ابتلا به دیابت پس از پیوند کبد می‌توان به سـن گیرنده پیوند، سن و جنس در دهنده پیوند، میانگین توده بدنی، افزایش میزان سـطح سـرمی قند خون ناشـتا، اسـتفاده از پردنیزولون، هپاتیت ویروسـی و دارا بودن ژنوتیپ kk در افراد را بیان کرد و در مقابل این مطالعه نشـان دهنده اثر حفاظتی ژنوتیپ EE در ابتلا به دیابت پس از پیوند می‌باشـد. پیشـنهاد می‌گردد به منظور تأیید نتایج حاصل، این بررسی بر روی تعداد افراد بیشتری انجام گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان نامه دوره کارشـناسـی ارشـد اینجانب می‌باشـد. مراتب تشـکر خود را از معاونت پژوهشـی دان شگاه آزاد ا سلامی واحد ار سنجان اعلام می‌دارم. همچنین از زحمات تمام دوسـتان و همکاران عزیز در مرکز تحقیقات پیوند اعضـاء و ترمیم عضـو در بیمارسـتان نمازی شـیراز به خصـوص سـرکار خانم معصـومه دارایی که در اجرای این پروژه ما را یاری نمودند تقدیر و تشکر به عمل می‌آورم.

References

1. Larijani B, Zahedi F, Shidfar F. Ethics in tissue and organ transplantation researches. Journal of Diabetes & Metabolic Disorders. 2005; 4(1): 92-83.[Article In Persian]
2. Ebrahimi-Daryani N. Indications and Contraindications of Liver Transplantation,liver Transplantation Seminar, Tir 21-22, Imam Khomeini Hospital,Tehran University of Medical Science; 2007; p. 16-21.[Article In Persian]
3. Sabet B, Rajaee-fard AB, Nikeghbalian S, Malek-Hosseini SA. Six Years Liver Transplants Outcome in Shiraz Transplant Center. JIMS. 2009; 27(99): 550-543. [Article In Persian]
4. Shahbazian H, Shahbazian H. Study Of Incidence And Risk Factors Of Post Kidny Transplantation Diabetic Melitus. Jundishapur Sci Med J. 2006; 5(3):633-7. [Article In Persian]

5. Alqahtani SA. Update in liver transplantation. Curr Opin Gastroenterol. 2012;14(75):133-41.
6. Laperrousaz S, Tiercy S, Villard J, Ferrari-Lacraz S. HLA and nonHLA polymorphisms in renal transplantation. Swiss Med Wkly. 2012;142:w13668.
7. Gomes MB, Cobas RA. Post-transplant diabetes mellitus. Diabetology & metabolic syndrome. 2009;1(1):14.
8. Lee HC. Post-renal transplant diabetes mellitus in korean subjects: superimposition of transplant-related immunosuppressant factors on genetic and type 2 diabetic risk factors. Diabetes Metab J. 2012;36(3):199-206.
9. Ahn HY, Cho YM, Yi NJ, Suh KS, Lee KU, Park KS, et al. Predictive factors associated with the reversibility of post-transplantation diabetes mellitus following liver transplantation. J Korean Med Sci. 2009;24(4):567-70.
10. Kuypers DR, Claes K, Bammens B, Evenepoel P, Vanrenterghem Y. Early clinical assessment of glucose metabolism in renal allograft recipients: diagnosis and prediction of post-transplant diabetes mellitus (PTDM). Nephrol Dial Transplant. 2008;23(6):2033-42.
11. Madziarska K, Weyde W, Krajewska M, Patrzalek D, Janczak D, Kusztal M, et al. The increased risk of post-transplant diabetes mellitus in peritoneal dialysis-treated kidney allograft recipients. Nephrol Dial Transplant. 2011;26(4):1396-401.
12. Seifi S, Rahbar M, Lessan-Pezeshki M, Khatami MR, Abbasi MR, Mahdavi-Mazdeh M, et al. Posttransplant diabetes mellitus: incidence and risk factors. Transplantation proceedings. 2009;41(7):2811-3.
13. McTaggart JS, Jenkinson N, Brittain JS, Greeley SA, Hattersley AT, Ashcroft FM. Gain-of-function mutations in the K(ATP) channel (KCNJ11) impair coordinated hand-eye tracking. PLoS One. 2013;8(4):e62646.
14. Tan JT, Ng DP, Nurbaya S, Ye S, Lim XL, Leong H, et al. Polymorphisms identified through genome-wide association studies and their associations with type 2 diabetes in Chinese, Malays, and Asian-Indians in Singapore. JCEM. 2010;95(1):390-7.
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):645-59.
16. Ghasemi M, Habibipour R, Keshavarz Kiasaraei P. 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. IJEM. 2011; 13 (6) :673-680. [Article In Persian]
17. Li YY. The KCNJ11 E23K gene polymorphism and type 2 diabetes mellitus in the Chinese Han population: a meta-analysis of 6,109 subjects. Mol biol rep. 2013;40(1):141-6.
18. Ragia G, Tavridou A, Petridis I, Manolopoulos VG. Association of KCNJ11 E23K gene polymorphism with hypoglycemia in sulfonylurea-treated type 2 diabetic patients. Diabetes Res Clin Pract. 2012;98(1):119-24.
19. Tavira B, Coto E, Torres A, Diaz-Corte C, Diaz-Molina B, Ortega F, et al. Association between a common KCNJ11 polymorphism (rs5219) and new-onset posttransplant diabetes in patients treated with Tacrolimus. Molecular genetics and metabolism. 2012;105(3):525-7.
20. Nikolac N, Simundic AM, Katalinic D, Topic E, Cipak A, Zjacic Rotkvic V. Metabolic control in type 2 diabetes is associated with sulfonylurea receptor-1 (SUR-1) but not with KCNJ11 polymorphisms. Archives of medical research. 2009;40(5):387-92.
21. Kurzawski M, Dziewanowski K, Kedzierska K, Wajda A, Lapczuk J, Drozdzik M. Association of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene polymorphism with posttransplant diabetes mellitus in kidney transplant patients medicated with tacrolimus. Pharmacological reports: PR. 2011;63(3):826-33. Epub 2011/08/23.
22. Sarno G, Muscogiuri G, De Rosa P. New-onset diabetes after kidney transplantation: prevalence, risk factors, and management. Transplantation. 2012;93(12):1189-95.
23. Kurzawski M, Dziewanowski K, Lapczuk J, Wajda A, Drozdzik M. Analysis of common type 2 diabetes mellitus genetic risk factors in new-onset diabetes after transplantation in kidney transplant patients medicated with tacrolimus. E J clin pharmacol. 2012;68(12):1587-94.
24. Javorsky M, Klimcakova L, Schroner Z, Zidzik J, Babjakova E, Fabianova M, et al. KCNJ11 gene E23K variant and therapeutic response to sulfonylureas. EJIM. 2012;23(3):245-9.
25. Ling Q, Xie H, Lu D, Wei X, Gao F, Zhou L, et al. Association between donor and recipient TCF7L2 gene polymorphisms and the risk of new-onset diabetes mellitus after liver transplantation in a Han Chinese population. Journal of hepatology. 2013;58(2):271-7.
26. Ollech JE, Kramer MR, Peled N, Ollech A, Amital A, Medalion B, et al. Post-transplant diabetes mellitus in lung transplant recipients: incidence and risk factors. Eur J Cardiothorac Surg 2008;33(5):844-8.
27. Razeghi E, Heydarian P, Amerian M, Pourmand G. The risk factors for diabetes mellitus after kidney transplantation. Saudi J Kidney Dis Transpl. 2010;21(6):1038-43.
28. Kamar N, Mariat C, Delahousse M, Lefrancois N, Dantal J, Benhamou P. New onset diabetes mellitus incidence and risk factors in kidney transplantation: results of the observational cross-sectional study diapason. Transplantation proceedings. 2006;38(7):2295-7.
29. 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. 2007;52(10):781-93.
30. Tavira B, Coto E, Diaz-Corte C, Ortega F, Arias M, Torres A, et al. KCNQ1 gene variants and risk of new-onset diabetes in tacrolimus-treated renal-transplanted patients. Clinical transplantation. 2011;25(3):E284-91.
31. Wang Y, Zhou XO, Zhang Y, Gao PJ, Zhu DL. Association of KCNJ11 with impaired glucose regulation in essential hypertension. Genet Mol Res: GMR. 2011;10(2):1111-9.
32. Yang J, Hutchinson, II, Shah T, Min DI. Genetic and clinical risk factors of new-onset diabetes after transplantation in Hispanic kidney transplant recipients. Transplantation. 2011;91(10):1114-9.

Original Article

Investigation of KCNJ11 Gene Variant (rs 5219) in Patients with Diabetes after Liver Transplantation

Parvizi Z[1*], Azarpira N[2], Kohan L[1], Kazemi K[3], Parvizi MM[4]

1- Department of Biology, Arsanjan Branch, Islamic Azad University, Arsanjan, Iran
2- Transplant Research Center, Namazi Hospital, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
3- Transplant Ward, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
4- Research Center for Traditional Medicine and History of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

Received: 05 Dec 2013 Accepted: 05 Jan 2014

Abstract

Background & Objective: The incidence of diabetes in liver transplant recipients is one of the common problems among these patients witha negative effect on the success of the transplant and the patient's life. Post Transplant Diabetes Mellitus (PTDM) has many similarities with type 2 diabetes from pathophysiplogical, clinical, and genetic viewpoints... One of the genotypes involved in PTDM is KCNJ11 (rs 5219) that has role in beta-cell function and has regulator effect on ATP sensitive K channels. The purpose of this study is to review the relation between this polymorphism and diabetes after liver transplantation in an Iranian population.

Materials & Methods: This is a case-control study on 120 patients receiving liver transplant, including 60 patients with PTDM and 60 patients without PTDM. White blood cell samples were selected from the cell bank of organ transplantation research centre in Namazi Hospital from patients who had undergone liver transplantation during the years 2008 and2012. Frequency of genotypes in this population was determined by PCR-RFLP method. To express the results we used distribution indices and parametric statistical tests.

Results: Statistical analysis shows that there is a significant difference between the genotype and the allele frequencies of the two groups of case and control.. KK genotype (P=0.001; 95%CI (1.60-7.6); OR=1.19 increases the risk of PTDM.

Conclusion: Our study shows that there is a relation between the incidence of PTDM and sex, age, prednisolone dosage, KCNJ11 polymorphism, and KK genotype.

Keywords: **KCNJ11, 5219rs, diabetes after liver transplantation, liver transplantation**

* **Corresponding author: Parvizi Zahra**, Department of Biology, Arsanjan Branch, Islamic Azad University, Arsanjan, Iran
TEL: +989173235766- 07138311317
Email: zparvizi@gmail.com