Ассоциация полиморфного маркера Glu23Lys гена *KCNJ11* с сахарным диабетом 2-го типа в кыргызской популяции

Д.м.н. Ж.Т. ИСАКОВА¹, Э.Т. ТАЛАЙБЕКОВА¹, Д.И. ИСАБАЕВА³, О.С. ЛУНЕГОВА²,
к.м.н. А.С. КЕРИМКУЛОВА², Д.А. АСАМБАЕВА¹, д.б.н. А.А. АЛДАШЕВ¹

¹Институт молекулярной биологии и медицины, Бишкек, Кыргызская Республика; ²Национальный центр кардиологии и терапии, Бишкек, Кыргызская Республика; ³Кыргызская государственная медицинская академия, Бишкек

Цель исследования — изучить ассоциацию полиморфного локуса Glu23Lys гена *KCNJ11* с развитием сахарного диабета 2-го типа (СД2) в кыргызской популяции.

Материал и методы. Обследованы 287 человек кыргызской национальности. Исследование было проведено по типу «случай—контроль», включало 178 больных с СД2 (55 женщин и 123 мужчины, средний возраст 54±6,6 года) и 109 пациентов (48 женщин и 61 мужчина, средний возраст 50±8,4 года) без нарушений углеводного обмена (контрольная группа). Идентификация аллелей в полиморфном локусе Glu23Lys гена *KCNJ11* проводилась методом регистрации полиморфизма длин рестрикционных фрагментов.

Результаты. При сравнительном анализе распределения частот генотипов и аллелей полиморфизма Glu23Lys гена *KCNJ11* среди больных СД2 и лиц контрольной группы выявлены статистически значимые различия. Частота встречаемости аллеля 23Lys в гетерозиготном и гомозиготном состояниях (Glu23Lys+Lys23Lys) у больных СД2 была значимо выше, чем в группе контроля ($\chi^2=4,09$; $p=0,043$). Риск развития СД2 у носителей аллеля 23Lys увеличивается в 1,46 раза [OR=1,46 (1,02—2,07); $p=0,036$]. Гомозиготный генотип Glu23Glu и аллель Glu23 снижают риск развития СД2 [OR=0,61 (0,37—0,99); $p=0,043$ для генотипа и OR=0,69 (0,48—0,98); $p=0,037$ для аллеля].

Заключение. В кыргызской популяции полиморфный локус Glu23Lys гена *KCNJ11* ассоциирован с развитием СД2. Предрасположенность к СД2 наследуется согласно доминантной и аддитивной моделям наследования признака. У кыргызов аллелем риска развития СД2 в полиморфном локусе Glu23Lys гена *KCNJ11* является 23Lys.

Ключевые слова: полиморфизм Glu23Lys, ген *KCNJ11*, СД2, кыргызская популяция.

Polymorphisms Glu23Lys of *KCNJ11* gene are associated with Type 2 diabetes in the Kyrgyz Population

J.T. ISAKOVA¹, E.T. TALAIBEKOVA¹, D.I. ISABAEVA³, O.S. LUNEGOVA², A.S. KERIMKULOVA², D.A. ASAMBAEVA¹,
A.A. ALDASHEV¹

¹Institute of Molecular Biology and Medicine, Bishkek, Kyrgyz Republic; ²National Center of Cardiology and Internal Medicine, Bishkek, Kyrgyz Republic; ³Kyrgyz State Medical Academy, Bishkek

Aim — in this study, we investigated whether polymorphisms Glu23Lys in *KCNJ11* are associated with Type 2 diabetes mellitus (T2DM) in the Kyrgyz population.

Material and methods. We genotyped 287 Kyrgyz individuals. A case—control study was performed, including 178 patients with T2DM (female — 55, male — 123, average age 54±6,6) and 109 non-diabetes controls (female — 48, male — 61, average age 50±8,4). The genotypes of polymorphic position Glu23Lys of *KCNJ11* were determined by PCR-RFLP assay.

Results. Genotypes Glu23Lys and Lys23Lys, containing the minor allele 23Lys, were more frequent in the group of type 2 diabetes ($\chi^2=4,09$; $p=0,043$). The allele 23Lys of *KCNJ11* gene is associated with a high risk of developing type 2 diabetes in the Kyrgyz population [OR=1,46 (1,02—2,07); $p=0,036$]. Homozygous genotype Glu23Glu and allele Glu23 reduces the risk of developing type 2 diabetes [OR=0,61 (0,37—0,99); $p=0,043$ and OR=0,69 (0,48—0,98); $p=0,037$], respectively).

Conclusion. Polymorphisms Glu23Lys of *KCNJ11* gene are associated with the risk of Type 2 diabetes mellitus in the Kyrgyz Population according to the dominant and additive models of inheritance of the trait. Our results indicate that the allele 23Lys of *KCNJ11* gene confers an elevated risk for the development of Type 2 diabetes mellitus in the Kyrgyz population.

Keywords: polymorphisms Glu23Lys, *KCNJ11* gene, Type 2 diabetes mellitus, Kyrgyz population.

doi: 10.14341/probl201561526-29

В последние 10 лет в Кыргызской Республике, как и других странах, отмечается тенденция к росту числа больных сахарным диабетом 2-го типа (СД2). Согласно официальным данным республиканского медико-информационного центра Министерства здравоохранения, в 2013 г. в Кыргызстане зарегистрировано 15 566 случаев СД2 среди мужчин и 26 506 — среди женщин. В 2014 г. заболеваемость СД2 возросла, составив у мужчин — 16 997, у женщин — 27 218 случаев.

СД2 — многофакторное заболевание, развитие которого зависит от образа жизни (высококалорийное питание, низкая физическая активность, ожирение, хронические стрессы) и наследственной предрасположенности [1]. В настоящее время выявлено несколько десятков генов-кандидатов, ассоциированных с риском развития СД2 [2]. В качестве одного из генов-кандидатов предрасположенности к СД2 рассматривается ген *KCNJ11* (potassium channel, inwardly rectifying subfamily J, member 11).

Ген *KCNJ11*, расположенный на 11 хромосоме (11p15.1), кодирует состоящий из 390 аминокислотных остатков белок Kir 6.2, который вместе с рецептором к сульфонилмочевине в β -клетках поджелудочной железы формирует АТФ-зависимый калиевый канал и участвует в глюкозо-стимулированной секреции инсулина [3]. Поступление глюкозы в β -клетку с помощью глюкозного транспортера GLUT-2 приводит к увеличению уровня АТФ и к закрытию АТФ-зависимых калиевых каналов. Последнее ведет к деполяризации клеточной мембраны, открытию кальциевых каналов и усиленному притоку Ca^{++} внутрь клетки. Повышение концентрации внутриклеточного Ca^{++} стимулирует слияние инсулинсодержащих гранул с мембраной и выход инсулина из β -клетки путем экзоцитоза [4].

Полиморфизм Glu23Lys (rs5219), расположенного в первом экзоне гена *KCNJ11*, обусловлен заменой нуклеотида гуанина на аденин (G→A), которая приводит к аминокислотной замене глутаминовой кислоты на лизин в 23-м положении (Glu23→Lys) белка Kir 6.2. Предполагается, что при такой замене с изменением структуры белка нарушается функционирование АТФ-зависимого калиевого канала и не происходит секреции инсулина в кровотоки, что ведет к хронической гипергликемии и развитию СД2 [5].

В крупных метаанализах исследований, проведенных в азиатских и европейских популяциях, установлено, что носители аллеля 23Lys гена *KCNJ11* имеют повышенный риск развития СД2 [6, 7].

Этнический фактор, климатогеографические условия проживания, характер питания значительно влияют на различия в частотах аллелей полиморфных маркеров и соответственно на общий генетический риск заболевания, в связи с чем необходимо выявление генетических маркеров риска развития СД2 в различных этнических группах.

Цель исследования — изучить ассоциацию генотипов и аллелей полиморфного локуса Glu23Lys гена *KCNJ11* с развитием СД2 в кыргызской популяции.

Материал и методы

Обследованы 287 человек кыргызской национальности. Из них 178 с установленным диагнозом СД2, согласно критериям ВОЗ (1999) [8]. В группу СД2 вошли 123 (69%) мужчины и 55 (31%) женщин, средний возраст которых на момент обследования составлял $54 \pm 6,6$ года. Набор пациентов СД2 проводился в отделении общей терапии Национального центра кардиологии и терапии Бишкека и в отделении эндокринологии Национального госпиталя МЗ Кыргызской Республики.

Группу контроля составили 109 практически здоровых лиц без клинических и лабораторных признаков СД2, ожирения, метаболического синдрома, дислипидемии и артериальной гипертензии. Группа контроля представлена 61 (56%) мужчиной и 48 (44%) женщинами (средний возраст $50 \pm 8,4$ года). У всех пациентов с СД2 и контрольной группы измеряли рост, массу тела, артериальное давление, индекс массы тела, окружность бедер и талии. Забор крови для определения концентраций глюкозы, инсулина, показателей липидного обмена осуществлялся утром натощак после 14-часового голодания. Все участники исследования подписывали информированное согласие на проведение молекулярно-генетических анализов. Протокол исследования одобрен этическим комитетом Национального центра кардиологии и терапии МЗ КР.

ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции. Идентификацию аллелей полиморфного локуса Glu23Lys гена *KCNJ11* проводили методом регистрации полиморфизма длин рестриционных фрагментов (ПДРФ-анализ), согласно протоколу [9]. В качестве праймеров использовали нуклеотидные последовательности 5'-GACTCTGCAGTGA GGCCTA-3' (прямой праймер) и 5'-ACGTTGC AGTTGCCTTTCTT-3' (обратный праймер). После проведения ПЦП продукты амплификации (размер 210 п.н.) обрабатывали эндонуклеазой Ban II. После рестрикции получены три генотипа: Glu/Glu — 150+32+28 п.н. (гомозигота дикий тип); Glu/Lys — 178+150+32+28 п.н. (гетерозигота) и Lys/Lys — 178+32 п.н. (гомозигота мутантный тип).

Для оценки соответствия распределений генотипов ожидаемым значениям равновесия Харди—Вайнберга и для сравнения частот генотипов и аллелей в выборках пациентов с СД2 и лиц контрольной группы использовали критерий χ^2 Пирсона. Для установления значимых связей между СД2 и носительством сочетаний аллелей и/или генотипов рассчитывали отношение шансов (OR, odds ratio) с указанием 95% доверительного интервала (95% ДИ). Для вычисления отношения шансов использовали онлайн калькулятор (<https://www.medcalc.net/tests/>)

Сведения об авторах:

Исакова Ж.Т. — д.м.н., зав. лаб. мол. диагностики ИМБиМ; e-mail: jainagul@mail.ru;

Талайбекова Э.Т. — н.с., лаб. клеточной биологии ИМБиМ;

Исабаева Д.И. — врач эндокринол. отд. каф. внутренних болезней Кыргызской государственной медицинской академии им. И.К. Ахунбаева;

Лунегова О.С. — к.м.н., врач отд. общей терапии НЦКТ при МЗ, Бишкек, Кыргызская Республика;

Керимкулова А.С. — к.м.н., врач отд. общей терапии НЦКТ при МЗ, Бишкек, Кыргызская Республика;

Асамбаева Д.А. — н.с., лаб. клеточной биологии ИМБиМ;

Алдашев А.А. — д.б.н., проф., дир. института ИМБиМ

Ассоциация полиморфного маркера Glu23Lys гена *KCNJ11* с СД2 в кыргызской популяции

Генотипы и аллели	СД2 (n=178)	Контроль (n=109)	χ^2	p	OR	95% ДИ
Общая модель наследования						
Glu23Glu	65 (37%)	53 (49%)	4,28	0,12	0,61	0,37—0,99
Glu23Lys	79 (44%)	41 (38%)			1,32	0,81—2,16
Lys 23Lys	34 (19%)	15 (13%)			1,48	0,76—2,86
Доминантная модель наследования						
Glu23 Glu	65 (37%)	53 (49%)	4,09	0,043	0,61	0,37—0,99
Glu23Lys + Lys 23Lys	113 (63%)	56 (51%)			1,65	1,04—2,67
Рецессивная модель наследования						
Glu23 Glu + Glu23Lys	144 (81%)	94 (86%)	1,36	0,24	0,67	0,35—1,31
Lys 23Lys	34 (19%)	15 (14%)			1,48	0,76—2,87
Аддитивная модель наследования						
Аллель Glu23	209 (0,59)	147 (0,67)	4,37	0,036	0,69	0,48—0,98
Аллель 23Lys	147 (0,41)	71 (0,33)			1,46	1,02—2,07

odds_ratio.php). Как отсутствие ассоциации рассматривали $OR=1$; как положительную ассоциацию («предрасположенность») — $OR>1$; как отрицательную ассоциацию аллеля или генотипа с заболеванием (пониженный риск развития заболевания) считали $OR<1$. Для всех видов анализа статистически значимым считалось значение $p<0,05$.

Результаты и обсуждение

Результаты исследования полиморфного маркера Glu23Lys гена *KCNJ11* в контрольной группе и у пациентов с СД2 кыргызской популяции представлены в **таблице**. Распределение частот генотипов полиморфного маркера соответствовало равновесию Харди—Вайнберга (в группе с СД2 $\chi^2=1,27$; $p=0,259$ и в контрольной группе $\chi^2=2,248$; $p=0,133$).

Как видно из показателей в **таблице**, частота встречаемости аллеля 23Lys в гетерозиготном и гомозиготном состояниях (Glu23Lys+Lys23Lys) у больных СД2 была выше, чем в группе контроля ($\chi^2=4,09$; $p=0,043$). Риск развития СД2 у носителей аллеля 23Lys увеличивается в 1,46 раза [$OR=1,46$ (95% ДИ 1,02—2,07); $p=0,036$]. Гомозиготный генотип Glu23Glu и аллель Glu23 снижают риск развития СД2 [$OR=0,61$ (95% ДИ 0,37—0,99); $p=0,043$ для генотипа и $OR=0,69$ (95% ДИ 0,48—0,98); $p=0,037$ для аллеля]. Таким образом, в кыргызской популяции полиморфный локус Glu23Lys гена *KCNJ11* ассоциирован с развитием СД2. Предрасположенность к СД2 наследуется в соответствии с доминантной и аддитивной моделями наследования признака. У этнических кыргызов аллелем риска развития СД2 в полиморфном локусе Glu23Lys гена *KCNJ11* является 23Lys.

Наши результаты согласуются с данными генотипирования больных СД2 азиатской и европейской популяций, где вариантный аллель 23Lys поли-

морфного локуса Glu23Lys гена *KCNJ11* является генетическим маркером риска СД2. Так, носительство аллеля 23Lys повышает риск развития СД2 в китайской [$OR=1,15$ (95% ДИ 1,10—1,210); $p=0,0001$] [10], японской [$OR=1,32$ (95% ДИ 1,09—1,60); $p=0,004$] [11], корейской [$OR=1,376$ (95% ДИ 1,085—1,745); $p=0,008$] [12] и русской популяциях [$OR=1,33$ (95% ДИ 1,07—1,72); $p=0,013$] [13], а также среди англичан [$OR=1,23$ (95% ДИ 1,12—1,36); $p=0,000015$] [14], тунисцев [$OR=1,29$ (95% ДИ 1,15—1,46); $p=0,0001$] и арабов, проживающих в Тунисской Республике [$OR=1,33$ (95% ДИ 1,13—1,56); $p=0,001$] [15], тайваньцев [$OR=2,84$ (95% ДИ 1,04—7,75); $p=0,044$] [16], иранцев [$OR=2,5$ (95% ДИ 1,01—6,14); $p=0,048$] [9].

Таким образом, данные литературы и результаты наших исследований показывают, что полиморфный локус Glu23Lys гена *KCNJ11* является важным генетическим фактором риска развития СД2 как в азиатских, так и в европейских популяциях. Частота встречаемости аллеля риска — 23Lys гена *KCNJ11* в кыргызской популяции составляет 0,33 и существенно не отличается от таковой в других азиатских популяциях и среди европейцев (0,34—0,37) [12, 14—17].

Выявление с помощью молекулярно-генетических методов групп лиц повышенного риска развития СД позволяет тщательно проводить диспансерное наблюдение за состоянием их здоровья с целью выявления и своевременной коррекции ранних нарушений углеводного обмена.

Конфликт интересов отсутствует.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования — Алдашев А.А., Лунегова О.С.

Сбор и обработка материала — Лунегова О.С., Керимкулова А.С., Исабаева Д.И.

Генотипирование — Талайбекова Э.Т., Асамбаева Д.А.

Статистическая обработка данных — Исакова Ж.Т., Талайбекова Э.Т.

Написание текста — Исакова Ж.Т.

Редактирование — Алдашев А.А.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дедов И.И. “Инновационные технологии в лечении и профилактике сахарного диабета и его осложнений”. // *Сахарный диабет*. 2013;16:3:4-10. [Dedov I. Novel technologies for the treatment and prevention of diabetes mellitus and its complications. *Diabetes mellitus*. 2013(3):4-10. (In Russ.)]. doi: 10.14341/2072-0351-811.
2. Florez JC. The genetics of type 2 diabetes: a realistic appraisal in 2008. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2008;93(12):4633-4642. doi: 10.1210/jc.2008-1345.
3. Lasram K, Ben Halim N, Hsouna S, et al. Evidence for association of the e23k variant of *kcnpj11* gene with type 2 diabetes in tunisian population: population-based study and metaanalysis. *Biomed Research International*. 2014;2014:1-9. doi: 10.1155/2014/265274.
4. Devaney J, Qiu L, Na R, et al. Quantitative assessment of the effect of *KCNJ11* gene polymorphism on the risk of type 2 diabetes. *PLoS One*. 2014;9(4):e93961. doi: 10.1371/journal.pone.0093961.
5. Hani EH, Boutin P, Durand E, et al. Missense mutations in the pancreatic islet beta cell inwardly rectifying K⁺ channel gene (*KIR6.2/BIR*): a metaanalysis suggests a role in the polygenic basis of type ii diabetes mellitus in caucasians. *Diabetologia*. 1998;41(12):1511-1515. doi: 10.1007/s001250051098.
6. Qin LJ, Lv Y, Huang QY. Metaanalysis of association of common variants in the *KCNJ11-ABCC8* region with type 2 diabetes. *Gen Mol Res*. 2013;12(3):2990-3002. doi: 10.4238/2013.august.20.1.
7. Li Y-y. The *KCNJ11 E23K* gene polymorphism and type 2 diabetes mellitus in the chinese han population: a metaanalysis of 6,109 subjects. *Mol Biol Rep*. 2012;40(1):141-146. doi: 10.1007/s11033-012-2042-9.
8. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. In: definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a who consultation. Geneva, Switzerland: World Health Organization 1999;1:65.
9. Rabbani M, Sadeghi H, Moazen F, et al. Association of *KCNJ11 (E23K)* gene polymorphism with susceptibility to type 2 diabetes in iranian patients. *Advanced Biomedical Research*. 2015;4(1):1. doi: 10.4103/2277-9175.148256.
10. Zhou D, Zhang D, Liu Y, et al. The E23K variation in the *KCNJ11* gene is associated with type 2 diabetes in chinese and east asian population. *J Hum Genet*. 2009;54(7):433-435. doi: 10.1038/jhg.2009.54.
11. Sakamoto Y, Inoue H, Keshavarz P, 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):781-793. doi: 10.1007/s10038-007-0190-x.
12. Koo BK, Cho YM, Park BL, et al. Polymorphisms of *kcnpj11 (Kir6.2 gene)* are associated with type 2 diabetes and hypertension in the Korean population. *Diabet Med*. 2007;24(2):178-186. doi: 10.1111/j.1464-5491.2006.02050.x.
13. Потапов В.А. “Поиск генетических маркеров, определяющих предрасположенность к сахарному диабету 2-го типа”: Дис. ... канд. биол. наук. М 2010;24 [Potapov VA. Poisk geneticheskikh markerov, opredelyayushchikh predraspolozhennost' k sakharnomu diabētu 2 tipa: dissertation abstract. Moscow 2010;24. (In Russ.)].
14. Gloyn AL, Weedon MN, Owen KR, et al. Large-scale association studies of variants in genes encoding the pancreatic β -cell *KAP1* channel subunits *Kir6.2 (KCNJ11)* and *SUR1 (ABCC8)* confirm that the *KCNJ11 E23K* variant is associated with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2003;52(2):568-572. doi: 10.2337/diabetes.52.2.568.
15. Ezzidi I, Mtraoui N, Cauchi S, et al. Contribution of type 2 diabetes associated loci in the arabic population from tunisia: a case-control study. *BMC Med Genet*. 2009;10(1):33. doi: 10.1186/1471-2350-10-33.
16. Jiang E-D, Chuang L-M, Pei D, et al. Genetic variations in the *Kir6.2 subunit (KCNJ11)* of pancreatic ATP-sensitive potassium channel gene are associated with insulin response to glucose loading and early onset of type 2 diabetes in childhood and adolescence in taiwan. *Int J Endocrinol*. 2014;2014:1-7. doi: 10.1155/2014/983016.