بررسی پراکندگی پلی مورفیسم ژن (rs13266634) *SLC30A8* در بیماران دیابتی نوع ۲ در غرب استان مازندران– ایران

محمد شکرزاده[۱]، عباس محمدپور[۲]، مهیار گرامی[۳]، مصطفی دریائی[۴]، مهدی عباسی روشن[۵]، مهران رجبی صحنه سرائی[۵*]

۱-دانشیار گروه سم شناسی و فارماکولوژی.
۲-استادیار گروه سم شناسی و فارماکولوژی.
۳-استادیار گروه فیزیولوژی گیاهی.
۴-کارشناس ارشد ژنتیک.
۵-دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک.

۱و۲-گروه سم‌شناسی و فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، مرکزتحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران.
۳-گروه فیزیولوژی گیاهی، موسسه ی غیر انتفاعی سنا، مازندران، ساری، ایران.
۴و۵-گروه ژنتیک، موسسه‌ی غیرانتفاعی سنا، مازندران، ساری، ایران.

*نویسندهٔ مسؤول:
مهران رجبی صحنه سرایی؛ گروه ژنتیک، موسسه غیر انتفاعی سنا، ساری، ایران.
تلفن: ۰۰۹۸۹۱۲۹۲۲۸۰۶۳
Email: mehranrajabii67@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: دیابت نوع ۲یک گروه نا همگن پیچیده ای از شرایط متابولیکی است که با افزایش سطح قند خون به علت اختلال در عملکرد انسولین و یا ترشح انسولین توصیف می شود. ژن *SLC30A8* به عنوان یکی از ژنهای عمده مستعد کننده ابتلا به دیابت نوع ۲ درنظرگرفته شده است.

روش بررسی: دراین مطالعه ی مورد – شاهدی ۱۳۵ بیمار و ۷۶ فرد سالم حضور یافتند. **۵cc** ازخون محیطی افراد دیابتی و افراد سالم(کنترل) در لوله های حاوی EDTA جمع آوری شد. DNA ژنومی با استفاده از روش Salting-out استخراج شد و با استفاده از روش PCR-RFLP بررسی ژنوتیپی پلی مورفیسم انجام شد.

یافته‌ها: فراوانی ژنوتیپ و فراوانی آللی پلی مورفیسم rs13266634 به طور معنی داری بین بیماران دیابتی نوع ۲ و افراد غیر دیابتی متفاوت بود (به ترتیب$p=0/0003$ و $p=0/0664$) . فراوانی آلل C درگروه دیابت نوع۲ ، ۸۹٪ و درافراد غیر دیابتی ۶۷٪ بود و این آلل به طور قابل توجهی با خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ ارتباط داشت (OR=10/0، 100%CI = 2/924/– 924/239 , 1/9124 –591/3058).

نتیجه گیری: نتایج ما ارتباط بین پلی مورفیسم rs13266634 ژن *SLC30A8* و افزایش خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ در غرب مازندران را تایید می کند.

واژه‌های کلیدی: دیابت نوع ۲ ، پلی مورفیسم rs13266634، ژن *SLC30A8*، PCR-RFLP .

دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۸/۲۹ دریافت مقالهٔ اصلاح‌شده: ۱۳۹۶/۱۰/۲۷ اعلام قبولی: ۱۳۹۶/۱۱/۱

مقدمه

دیابت یکی از بیماری های غددی شایع در جهان است، افراد دیابتی بیش از سایر افراد جامعه دچار مشکلات چشمی، عصبی، قلبی، عروقی و نارسایی های کلیوی می شوند (۱). دیابت به چهار گروه نوع یک،نوع دو، دیابت حاملگی و دیابت به علل متفرقه تقسیم بندی می شود که در این میان دیابت نوع ۲ شایعترین نوع دیابت بوده که ۹۰- ۸۵ درصد دیابت راشامل می شود(۲) . دیابت نوع ۲ یا دیابت غیروابسته به انسولین اغلب در سنین بالا و بعد از ۴۰ سالگی رخ می دهد و در این نوع دیابت غالباً میزان انسولین خون بیماران افزایش پیدا کرده که حاکی از کاهش حساسیت سلولهای بدن به انسولین می باشد. با توجه به آنکه اکثر مبتلایان به دیابت نوع ۲ افراد چاق هستند ادعا شده است که چاقی عامل کاهش حساسیت سلولهای بدن به انسولین است,دیابت نوع ۲ در افراد چاق بیشتر دیده می‌شود و چاقی خود درجاتی از مقاومت به انسولین ایجاد می‌کند و درصد شیوع این بیماری در زنان بیش از مردان است(۳). تا سال ۱۹۸۵ میلادی ۳۰ میلیون نفر در جهان به این بیماری مبتلا بوده که این آمار تا سال ۲۰۰۸ به ۲۳۰ میلیون نفر رسیده است(۴).سازمان جهانی بهداشت who(World Health Organization) با توجه به آمار و روند رو به تزاید بیماری دیابت در جهان آن را به عنوان یک اپیدمی نهفته اعلام کرد, شیوع جهانی دیابت در سال ۲۰۱۰ در میان بزرگسالان(سنین ۲۰ تا ۷۹ سال) ۶/۴ درصد معادل ۲۸۵ میلیون نفر می باشد و این میزان به ۷/۷ درصد معادل ۴۳۹ میلیون نفر در سال ۲۰۳۰ افزایش خواهد داشت.

یکی از ژنهای مهم که در ایجاد بیماری دیابت تاثیر فراوانی دارد ژن *SLC30A8* می‌باشد که در خانواده ی zinc transporters قرار می گیرد و بر روی کروموزوم شماره ی هشت (8q24.11) قرار دارد وشامل ۸ اگزون و ۷ اینترون می باشد و همچنین پروتئین کد شده توسط این ژن دارای ۳۶۹ اسید آمینه می باشد(۵). مطالعات بسیاری در ارتباط با zinc transporters صورت گرفته است و نشان داده اند که zinc transporters مانند : *SLC30A8* تا حدودی در ایجاد بیماری دیابت نوع ۲ تاثیر می گذارند و البته لازم به ذکر است که بعضی از واریانت ها و هاپلوتایپ های آنها تاثیر چندانی ندارند ولی بعضی از آنها مانند پلی مورفیسم‌های : rs1995222 , rs7002176 و مهمترین آنها rs13266634 دارای تاثیرات فراوانی در بیماری دیابت نوع ۲ می‌باشند (۶). انواع دیگری از پلی مورفیسم‌های *SLC30A8* با تاثیر بر روی سلولهای بتای لوزالمعده و ایجاد یکسری تغییرات باعث ایجاد بیماری دیابت نوع ۲ می شوند، به این صورت که اختلال بر روی SNP های خاصی از *SLC30A8* ایجاد می شود که نقل و انتقال عنصر Zn (روی) را در بدن تحت تاثیر قرار می دهند ودر نتیجه ترشح انسولین را مختل می کنند و علاوه بر این اتفاق این گونه های خاص و مختلف از zinc transporters یک پروتئین ناقل روی به نام ZnT-8 را تولید می کنند وطی فعالیت این پروتئین بهره وری کمتری از تجمع روی و تبلور انسولین حاصل خواهد شد(۷).Zn (روی) یک یون فلزی ضروری برای ذخیره سازی انسولین و ترشح آن به وزیکول داخل سلولی می باشد و نقل و انتقال آن در داخل سلولهای بدن توسط zinc transporters تحت تاثیر قرار می گیرد (۸). بررسی های فراوانی در مورد zinc transporters صورت گرفته است و طی این مطالعات به این نتیجه رسیدند که در بین تمامی SNP های این خانواده پلی‌مورفیسم rs13266634 یکی از مهمترین آنها می باشد که تا حدودی تاثیر بسیار زیادی در ایجاد بیماری دیابت نوع ۲ دارد ولی این بدین معنی نیست که پلی مورفیسم های دیگر از این خانواده مانند : rs7002176 و rs1995222 در ایجاد بیماری دیابت نوع ۲ تاثیر نخواهند داشت (۹).

امروزه دیابت در سراسر دنیا بصورت یک اپیدمی بی سابقه درحال گسترش می باشد و با توجه به نقش عوامل

ژنتیکی در ایجاد بیماری دیابت نوع ۲ ، بررسی ژنهای مرتبط بااین بیماری ضروری به نظر می رسد، لذا هدف از این پژوهش بررسی پراکندگی پلی مورفیسم ژن *SLC30A8* (rs13266634) در بیماران دیابتی نوع ۲ مراجعه کننده به کلینیک های غرب استان مازندران در سال ۹۵ می باشد.

روش بررسی

روش بررسی در این پژوهش از نوع مورد- شاهدی می باشد وجامعه مورد پژوهش و نمونه ها در این مطالعه ۲۱۱ نفر شامل ۱۳۵ بیمار مبتلا به دیابت نوع ۲ مراجعه کننده به آزمایشگاه های مراکز بهداشت غرب استان مازندران (نوشهر، چالوس، تنکابن، رامسر) که توسط پزشک متخصص تشخیص داده شده است و ۷۶ فرد سالم (نمونه کنترل) با سطح گلوکز طبیعی شرکت کردند. از هریک از افراد مورد مطالعه ، ۵ میلی لیتر نمونه خون گرفته شده و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد به آزمایشگاه بیوشیمی انتقال داده شدند. داوطلبین به مدت ۱۲ ساعت قبل از انجام آزمایشات از خوردن،فعالیت شدید فیزیکی و استعمال دخانیات امتناع ورزیدند. در گروه بیمار به منظور حذف اثر انسولین تزریقی بر میزان مقاومت به انسولین، بیمارانی که انسولین دریافت کرده بودند،از مطالعه خارج شدند. رضایت نامه کتبی و پرسشنامه مربوط به افراد دیابتی آگاهانه توسط هر شخص تکمیل و امضا گردید.

آزمایشات بیوشیمیایی: جهت اندازه گیری غلظت متابولیت ها مانند : گلوکز، کلسترول،HDL،LDL،اوره،اسید اوریک،تری گلیسرید،کراتینین،SGOT،SGPT از اتو آنالیزر (BT3000) استفاده شد.

استخراج DNA:

استخراج DNA از نمونه های خون با روش Salting-out صورت گرفت و پس از استخراج، کیفیت و کمیت DNA استخراج شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. سپس، نمونه های DNA در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند (۱۰).

تعیین ژنوتیپ:

تعیین ژنوتیپ با استفاده از واکنش زنجیره ای پلیمراز به روش هضم آنزیمی PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism) انجام شد. تکثیر با استفاده از یک جفت پرایمر اختصاصی صورت گرفته و قطعه ای به طول ۷۶۲ جفت باز تولید شد و پرایمرها با استفاده از نرم افزار Gene Runner طراحی شده اند. توالی پرایمرها در جدول ۱ ذکر شده است. واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر DNA ژنومی (100ng/µl)، ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس(Master mix PCR) و ۱ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرها (جدول ۱) که در نهایت با آب مقطر به حجم ۲۵ میکرولیتر رسیده است.برنامه ی زمانی واکنش PCR به شرح (جدول ۲) می باشد. سپس برای بررسی کیفیت محصول PCR، هر کدام از نمونه ها با الکتروفورز ژل آگارز ۲ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت.برای بررسی ژنوتیپ و غربالگری آلل ژن *SLC30A8* ، روشPCR-RFLP با استفاده از آنزیم محدود کننده PvuII انجام گرفت، سپس محصولات PCR-RFLP به وسیله الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱/۵٪ موردتجزیه و تحلیل قرار گرفتند(۱۰).

تجزیه و تحلیل آماری: به منظور تفسیر نتایج به دست آمده در این پژوهش بررسی‌های آماری با استفاده از نرم افزار Medcalc (Version.21) انجام شد. آزمون‌های آماری (X^2) Chi-squareو odds Ratio (OR) انجام گرفت و همچنین پارامترهایی مانند P-value **,** Confidence Interval (CI) نیز تعیین گردید.

جدول ۱: مشخصات پرایمر مورد استفاده و آنزیم محدود الاثر

ژن	پلی مورفیسم	توالی پرایمر	Tm	آنزیم محدود الاثر	قطعات حاصل از برش آنزیمی
SLC30A8	Rs13266634	F : 5-AAAGGTCTGTGGGGAGCTCTAAAC-3 R : 5-TGATGGATCTCAGTGCCTCTTCCT-3	۶۶/۵	Pvu II	CC=762bp TT=444bp,318bp CT=762bp,444bp,318 bp

جدول ۲: شرایط زمانی و دمای واکنش PCR جهت تکثیر پروموتر ژن *SLC30A8*

تعداد چرخه ها	زمان	دما	مراحل
P_1	5 min	94°C	واسرشت سازی اولیه
P2 : 35 cycle	30 sec	94°C	واسرشت سازی
	30 sec	66.5°C	اتصال آغازگر
	40 sec	72°C	تکثیر قطعه
P_3	10 min	72°C	تکثیر نهایی

یافته ها

تکثیر قطعات و ژنوتایپینگ : واکنش‌های زنجیره ای پلیمراز (PCR) با استفاده از پرایمرهای ویژه ای برای تکثیر قطعات در ژن *SLC30A8* انجام شد. تمام DNA های استخراج شده از هر دو نمونه مورد و شاهد یک محصول PCR تک باند اختصاصی بدون هیچ باند غیر اختصاصی دیگری تولید کرده اند.

تصویر ۱: نتایج RFLP مربوط به پلی مورفیسم rs13266634 ژن *SLC30A8* .حضور دو باند ۴۴۴ و ۳۱۸ جفت بازی نشانه ی ژنوتیپ TT ، وجود باند سه گانه ۷۶۲، ۴۴۴ و ۳۱۸ جفت بازی نشانه ژنوتیپ TC و حضور یک باند ۷۶۲ جفت بازی نشانه ژنوتیپ CC می باشد که به ترتیب نماینده فنوتیپ‌های تیپ وحشی، هتروزیگوت و هموزیگوت موتانت هستند.

فراوانی ژنوتیپی :

دراین مطالعه مورد - شاهدی ۲۱۱ نفر (۱۳۵ بیمار مبتلا به دیابت نوع ۲ و ۷۶ فرد با گلوکز طبیعی) مورد بررسی قرار گرفتند . نتایج آزمایشات نشان داد که در میان ۱۳۵ فرد بیمار ، ۱۰۵ نفر (۷۸٪) دارای ژنوتیپ CC ، ۳۰ نفر (۲۲٪) دارای ژنوتیپ TC بودند. در میان ۷۶ فرد سالم (گروه کنترل) ،۳۴ نفر (۴۵٪) دارای ژنوتیپ CC، ۳۴ نفر (۴۵٪) دارای ژنوتیپ TC و ۸ نفر (۱۰٪) دارای ژنوتیپ TT بودند. تفاوت مشاهده شده بین افراد سالم و بیمار باتوجه به نتیجه آزمون آماری chi-square(χ^2 = ۳۰/۳۹۵ ، p≤۰/۰۰۰۱) معنی‌دار بود. در این مطالعه تفاوت توزیع ژنوتیپ C/C ، معنی‌دار بود (p=۰/۰۰۷۱) و باتوجه به میزان OR بدست آمده (۹۲۴/۲۳۹ -۲/۹۲۴ 95%CI و (OR= ۵۱/۹۸۵۵) ، این نتایج پیشنهاد می‌کند که این ژنوتیپ (C/C) ، خطر ابتلا به بیماری را افزایش می‌دهد و یک فاکتور خطر محسوب می‌شود(جدول ۳).

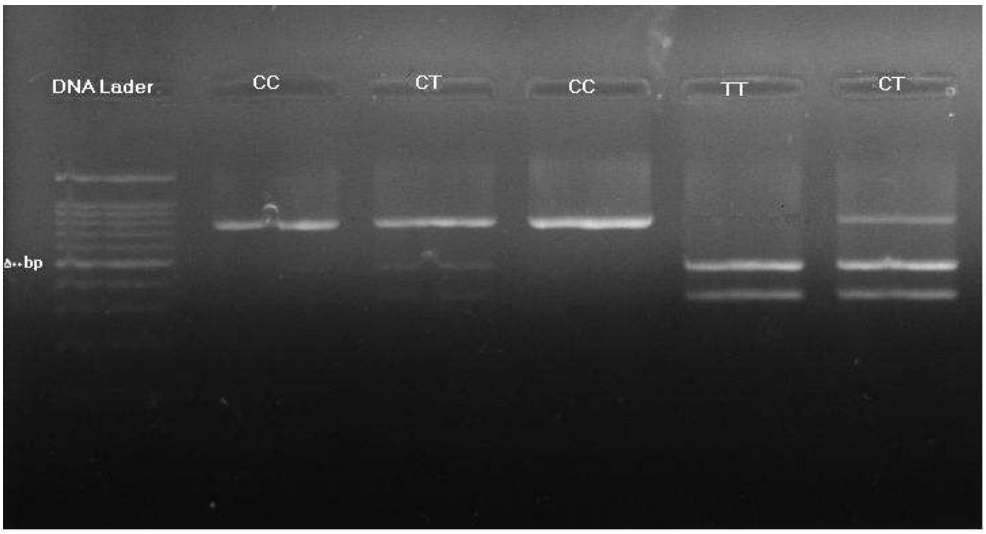
نکته : در جدول ۳ با در نظر گرفتن ژنوتیپ TT بعنوان ژنوتیپ رفرنس، ژنوتیپ های TC وCC را بصورت جداگانه و ژنوتیپ (TC+CC) را به صورت مشترک با ژنوتیپ TT مورد مطالعه و مقایسه قرار دادیم و نتایج حاصل در جدول ۳ ذکر شده است.

فراوانی آللی :

نتایج آزمایشات نشان داد که در بین افراد بیمار فراوانی آلل‌های T و C به ترتیب برابر با ۱۱٪ و ۸۹٪ و در افراد سالم به ترتیب برابر با ۳۳٪ و ۶۷٪ بود. باتوجه به نتیجه آزمون آماری chi-square(χ^2= ۱۲/۸۵۰، p= ۰/۰۰۰۳) ، چون P-value کمتر از ۰/۰۵ می‌باشد، بنابراین ارتباط معنی داری در توزیع آللی پلی‌مورفیسم rs13266634 ژن *SLC30A8* ، بین دو گروه بیمار و کنترل وجود دارد.(جدول ۳)

جدول ۳ : فراوانی ژنوتیپی و آللی پلی مورفیسم rs13266634 ژن *SLC30A8*

ژنوتیپ	بیمار (٪) ۱۳۵ نفر	سالم (٪) ۷۶ نفر	OR(95%CI)	سطح معنی داری
TT	۰	(۱۰)۸	۱	–
TC	(۲۲)۳۰	(۴۵)۳۴	۱۵/۰۲۹۰ (۰/۸۳۲۳– ۲۷۱/۳۷۴۷)	۰/۰۶۶۴
CC				
TC+CC	(۷۸)۱۰۵	(۴۵)۳۴	۵۱/۹۸۵۵ (۲/۹۲۴ – ۹۲۴/۲۳۹)	۰/۰۰۷۱
T	–	–	۳۳/۶۲۷۷ (۱/۹۱۲۴ – ۵۹۱/۳۰۵۸)	۰/۰۱۶۲
C	٪۱۱	٪۳۳	۱	–
	٪۸۹	٪۶۷	۳/۹۸۵۱ (۱/۸۷۷۸ – ۸/۴۵۶۹)	۰/۰۰۰۳



تصویر ۱: تایج RFLP مربوط به پلی مورفیسم rs13266634 ژن *SLC30A8*

بحث

دیابت یکی از شایع ترین بیماری های متابولیک است و در کشورهای پیشرفته و نیز در حال رشد، یک معضل بزرگ بهداشتی در حال گسترش می باشد که منجر به ناتوانی و مرگ زودرس می گردد. در طول زمان بالا بودن گلوکز خون به علت دیابت غیرکنترل شده باعث ایجاد عوارض طولانی مدت در اندامهای مختلف بدن می شود که می تواند موجب آسیب به سلولهای بتای پانکراس شده و باعث کاهش تولید انسولین شود. تشخیص زود هنگام دیابت جهت مهار عوارض دیابت بسیار مهم است که شامل بیماری های قلبی، افزایش فشارخون، آسیب های عصبی و نارسایی های کلیوی می باشد . خوشبختانه در بسیاری از موارد دیابت نوع ۲ می تواند به شکل مناسبی با اجرای هماهنگ تغذیه، ورزش و متفورمین که با دستور پزشک تجویز می شود، کنترل شود (۱۱). دیابت می تواند از آسیب های ناشی از عوامل ژنتیکی و عوامل محیطی ایجاد شود(۱۲).بطورکلی دیابت نوع ۲ در بزرگسالان تشخیص داده می شود و با چاقی، سبک زندگی، سن، سابقه خانوادگی و ژنتیک مرتبط است (۱۳). باتوجه به گستردگی، پیچیدگی و چند عاملی بودن بیماری دیابت، شناخت دقیق عوامل ژنتیکی مرتبط با دشواری هایی همراه است(۱۴). ژنهای متعددی در بروز دیابت دخیل هستند یا ابتلای به دیابت را تسهیل می کنند که یکی از این ژن ها *SLC30A8* می‌باشد. بر روی این ژن نواحی پلی مورفیسمی گوناگونی شناسایی شده اند که ارتباط میان آنها با اختلال در ترشح انسولین، تولید گلوکز و همچنین مقاومت به انسولین به واسطه تاثیر مستقیم بر سلولهای بتا پانکراس به اثبات رسیده است(۱۵).

در مطالعه ی Salem و همکاران که به بررسی تاثیر انواعی از zinc transporters مانند (*SLC30A8*) در ایجاد بیماری دیابت نوع ۲ در افراد سرخپوست مالزیایی پرداختند، این نتایج حاصل شد که در میان پلی مورفیسم های ژن *SLC30A8* می توان گفت rs1995222 و rs13266634 در ابتلا به بیماری دیابت نوع ۲ تاثیر دارند ولی rs1995222 تاثیر کمتری نسبت به rs13266634 در مبتلا شدن افراد سرخپوست مالزیایی به دیابت نوع ۲ دارد (۶). در مطالعه ی Ramasamy و همکاران که به بررسی پلی مورفیسم rs13266634 ژن *SLC30A8* ژنوتیپ C/T و ارتباط آن با ابتلا به دیابت نوع ۲ پرداختند، به این نتیجه رسیدند که پلی مورفیسم rs13266634 و ژنوتیپ C/T ارتباط قوی و مستقیمی با ابتلا افراد به دیابت نوع ۲ دارد (۱۶). در مطالعه ی Fan و همکاران که به بررسی ژن *SLC30A8* و پلی مورفیسم rs13266634 و ارتباط آن با ابتلا به دیابت نوع ۲ که یک مطالعه ی متا آنالیز بوده است پرداختند ، دریافتند که ژن *SLC30A8* و پلی مورفیسم rs13266634 و ژنوتیپ C/T در افراد مورد مطالعه می تواند در ابتلا به دیابت نوع ۲ تاثیر گذار باشد و این ارتباط در بین مدلهای غالب ومغلوب معنی دار می باشد(۱۷). در مطالعه ی Kulkarni و همکاران که به مطالعه بر روی عدم ارتباط بین پلی‌مورفیسمهای ژن *SLC30A8* با دیابت نوع ۲ در خانواده‌های مکزیکی و آمریکایی پرداختند، به این نتیجه رسیدند که در این دو جمعیت بزرگ پلی مورفیسمهای ژن *SLC30A8* در ارتباط با دیابت نوع ۲ تاثیر مستقیمی دارند ولی میزان این تاثیر بسته به نژاد این افراد می باشد(۱۸) . در مطالعه ی حاضر پراکندگی پلی مورفیسم ژن (rs13266634) *SLC30A8* در بیماران دیابتی نوع ۲ در غرب استان مازندران با روش PCR-RFLP با استفاده از آنزیم محدودالاثر مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که پلی‌مورفیسم ژن (rs13266634) *SLC30A8* تا حدودی با بیماری دیابت نوع ۲ مرتبط می‌باشد و غربالگری پلی‌مورفیسم *SLC30A8* می‌تواند در پیش آگهی بیماری، پیشگیری از پیشرفت بیماری و همچنین استفاده از راهکارهای درمانی مناسب در جهت افزایش طول عمر و بهبود کیفیت زندگی در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ کمک کننده باشد. قابل ذکر است که این نتیجه

محدود به جمعیت مورد مطالعه حاضر می‌باشد و به مطالعات بیشتر بر روی تعداد بیشتری از افراد و نژادهای متفاوت برای تایید ارتباط پلی‌مورفیسم *SLC30A8* با بیماری دیابت نوع ۲ نیاز می‌باشد.

منابع

1-Heshmati H,Behnampour N,Khorasani F,Moghadam Z.prevalence of chronic complications of diabete and its related factors in referred type 2 diabetes patients in fereydonkenar diabetes center : 2014;1(1):36-43 .(persian)

2-Safarpour M,Ebrahimi A,daneshpour M.From genome to gene: A review of genes and genetic variations associated with type 2 diabetes. 2015; 73(9): 615-623.(persian)

3-Reddy SS.Health outcomes in type 2 diabetes.Int.J. Clin. Pract.Suppl.2000;11(3):46-53.

4-Shaw JE,Sicree PZ,Zimmet PZ.Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. Diabetes Res Clin Pract.2010; 87(1):4-14.

5-Petrie JR , Pearson ER,Sutherland C,et al.Implications of genome wide association studies for the understanding of type 2 diabetes pathophysiology.Biochem Pharmacol. 2011; 8(1):471–477.

6-Salem SD,Riyadh SA,Ikram SI,Zaid AH,Sekaran M.Contribution of SLC30A8 variants to the risk of type 2 diabetes in a multi-ethnic population: a case control study. 2014 ; 14(2): 1472-6823 .

7-Steinthorsdottir V , Thorleifsson G , Reynisdottir I,Benediktsson R,Jonsdottir T,Walters GB,et al.A variant in CDKAL1 influences insulin response and risk of type 2 diabetes. Nat Genet . 2007 ; 3(9):770–775.

8-Nicolson TJ , Bellomo EA,Wijesekara N,Loder MK,Baldwin JM,Gyulkhandanyan AV, et al .Insulin storage and glucose homeostasis in mice null for the granule zinc transporter ZnT8 and studies of the type 2 diabetes-associated variants. Diabete. 2009 ; 5(8) :2070–2083.

9-Kirchhoff K,Machicao F,Haupt A,Schafer SA,Tschritter O,Staiger H,et al. Polymorphisms in the TCF7L2,CDKAL1 and SLC30A8 genes are associated with impaired proinsulin conversion.Diabetologia. 2008 ; 5(1) :597–601.

10-Shakuri GS , Shokrzadeh M ,Naji T,Hosseini V, Haghi AH , Alizadeh A,et al. Evaluation of GST-T1 Gene Polymorphism in Chronic Hepatitis B Infection . 2014 ; 24(115) : 52-59 .(persian)

11-Sheikhha MH,Afkhami AM,Mirjalili S,Dehghani S,Ghadimi H. Investigating the frequency of MSPI polymorphism of APOA1 gene in type II diabetic patients and comparing it with this frequency in nondiabetics. Genetics in the 3rd Millennium . 2013;11(2):3078-3083.(persian)

12-Riyahi F, Riyahi S,Yaribeygi H.Diabetes and Role of Exercise on its Control; A Systematic. Health Research Journal. 2016;1(2):113-121.(persian)

13-Rastegari A , Rabbani M,Sadeghi HM,Imani EF,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) 1-5.(persian)

14-Sayehmiri F,Moshtaghie AA ,Bakhtiyari S.Association of kcnj11 E23K Promoter Polymorphism with Type 2 Diabetes. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 2015 ; 24(121):1-8.(persian)

15-Safarpour M , Ebrahimi A,Daneshpour MS.From genome to gene: A review of genes and genetic variations associated with type 2 diabetes. Tehran University Medical Journal TUMS Publications. 2015 ;73(9): 615-23.(persian)

16-Ramasamy T,Mariakuttikan J.Association between SLC30A8 C/T (rs13266634) polymorphism and type 2 diabetes mellitus (T2DM): A meta-analysis of case-control studies. 2015; 7(10S):187-192 .

17-Fan M , Li W , Wang L , et al . Association of SLC30A8 gene polymorphism with type 2 diabetes ,evidence from 46 studies: a meta-analysis . 2016 ;10 (1007S) 12020-016-0870-4 .

18-Kulkarni H , Mamtani M,Peralta JM , et al . Lack of Association between *SLC30A8* Variants and Type 2 Diabetes in Mexican American Families. 2016 ; 10(9) :11-55.

Evaluation of *SLC30A8* Gene Polymorphism (rs13266634) Distribution in Patients with Diabetes Type 2 in West Mazandaran – Iran

Mohammad Shokrzadeh[1] , Abbas Mohammad Pour[2] , Mahyar gerami[3] , Mostafa Daryaei[4] , Mehdi Abbasi Roshan[5] , Mehran Rajabi Sahne Saraee[5*]

1-Associate Professor of Toxicology and Pharmacology.
2-Assistant Professor of Toxicology and Pharmacology.
3-Assistant Professor of Plant Physiology.
4-Assistant Professor of Plant Physiology.
5-Graduate Student of Genetics.

1,2-Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.
3-Department of Plant Physiology, University of Sana, Mazandaran, Sari, Iran.
4,5-Department of Graduate, Sana Non-Profit Institution, Sari, Iran.

**Corresponding author:*
Mehran Rajabi Sahne Saraee; Department of Graduate, Sana non-profit institution, Sari, Iran.
Tel: +989129228063
Email: mehranrajabii67@gmail.com

Abstract

Background and Objective: Type 2 diabetes mellitus is a complex heterogeneous group of metabolic disorders characterized by increased levels of blood glucose due to impairment in insulin action and/or insulin secretion. The SLC30A8 gene is considered as one of the most important candidate genes of type 2 diabetes. The objective of this study was to evaluate the distributuion of this gene among our patients in Mazandarn, Iran.

Subjects and Mehtods: In this case-control study, 135 patients and 76 healthy subjects were recruited. Five ml of peripheral blood of diabetics and healthy subjects (controls) was collected in EDTA-containing tubes. Genomic DNA was extracted using salting-out method and genotype and allele frequencies of the rs13266634 polymorphism were investigated using PCR-RFLP method.

Results: Genotype and allele frequencies of the rs13266634 polymorphism differed significantly between type 2 diabetic patients and non-diabetic subjects (P = 0.0003 and P = 0.0664 , respectively). The frequency of C allele was 89% in type 2 diabetes group and 67% in non-diabetic subjects, and this allele was significantly associated with type 2 diabetes risk (OR = 10.0, 95% CI 1.9124 – 591.3058 , 2.924 – 924.239).

Conclusion: Our results confirm the association between the rs13266634 polymorphism of the SLC30A8 gene and the increased risk of type 2 diabetes among the West Mazandaran population.

Keywords: Type 2 diabete, rs13266634 Polymorphism, SLC30A8 gene, PCR-RFLP.

►*Please cite this paper as:*
Shokrzadeh M, Mohammad Pour A, gerami M, DaryaeiM, Abbasi Roshan M, Rajabi Sahne Saraee M. Evaluation of SLC30A8 Gene Polymorphism (rs13266634) Distribution in Patients with Diabetes Type 2 in West Mazandaran – Iran. Jundishapur Sci Med J 2018; 17(1):63-70.

Received: Nov 20, 2017 **Revised: Jan 17, 2018** **Accepted: Jan 21, 2018**