

## Diyabetik Polinöropati Hastalarında Proteazom Modülatör 9 Geni rs14259 Polimorfizmi

### Proteasome Modulator 9 Gene rs14259 Polymorphism in Patients with Diabetic Polyneuropathy

Celal ŞALÇINI<sup>1</sup>, Gülin SUNTER<sup>2</sup>, Fatih ÖZEN<sup>3</sup>, Yağmur ÖZER<sup>4</sup>, Belkis ATASEVER ARSLAN<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Nöroloji Anabilim Dalı, NP İstanbul Beyin Hastanesi, Üsküdar Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

<sup>2</sup>Nöroloji Anabilim Dalı, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye

<sup>3</sup>Biyomühendislik Bölümü, Üsküdar Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

<sup>4</sup>Nörobilim Programı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Üsküdar Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

<sup>5</sup>Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Üsküdar Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

#### ÖZ

**Amaç:** Diyabetik polinöropati (DPN), diyabetes mellitus (DM) hastalığının majör nörolojik komplikasyonudur ve tipik olarak diyabetik duysal polinöropati (DDPN) varyasyonu olarak görülür. Benzer risk faktörü olan hastaların bazıları polinöropati geliştirirken bazılarının geliştirmemesi hastalığın genetik altyapısının olduğunu düşündürmektedir. Proteazom modülatör 9 geni (PSMD9) rs14259 polimorfizmi, insülin geninin transkripsiyon regülatörüdür ve variantları beta hücrelerinin disfonksiyonuna yol açarak insülin transkripsiyonunu bozmaktadır. Bu çalışmanın amacı Türk DPN'li DM hastalarında, proteazom PSMD9 rs14259 polimorfizmi ile DDPN riski arasındaki korelasyonu araştırmaktır.

**Metod:** Araştırmaya DDPN'si olan 31 DM hastası ve 29 sağlıklı birey alınmış olup tüm hastalar elektrofizyolojik araştırmaya dahil edilmiştir. Ayrıca bu hastaların periferik kan örneklerinden DNA izole edilip PSMD9 geni rs14259 genotiplenmiştir.

**Bulgular:** Hastaların ve kontrollerin ortalama yaşı sırasıyla 58,03±9,59 ve 57,62±12,32 olarak saptanmıştır. Kontrol grubu ve DDPN hastaları arasındaki AA (n=9 ve n=12), AG (n=10 ve n=15) ve GG (n=12 ve n=2) genotip frekanslarının farklılıkları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. PSMD9 geni rs14259 polimorfizmi dağılımı A alleli DDPN hastalarda 45,2% (n=28), kontrollerde 67,2% (n=39) ve G alleli DDPN hastalarda 54,8% (n=34), kontrollerde 32,8% (n=19) saptanırken, rs14259'de G allelinin frekansı DDPN hastalarında anlamlı olarak daha yüksek olduğu bulunmuştur (X<sup>2</sup>=1,059; p=0,015; OR:2,49; %95 CI: 1,18-5,23).

**Sonuç:** Bu çalışmanın sonuçları, PSMD9 rs14259 polimorfizminde GG genotipi ve G allelinin Türk DM hastalarında DDPN riskinin artması ile ilişkili olabileceğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** PSMD9, diyabetes mellitus, diyabetik polinöropati, rs14259

#### ABSTRACT

**Introduction:** Diabetic polyneuropathy (DPN) is a major chronic neurological complication of diabetes mellitus (DM) and typically presents as diabetic sensory polyneuropathy (DSPN). Whereas some patients with similar risk factors develop polyneuropathy, others don't, which suggests that genetics plays an important role in the progression of disease. The proteasome modulator 9 gene (PSMD9) is a transcriptional regulator of the insulin gene and its variants cause beta-cell dysfunction that devastates insulin transcription. The aim of this study was to determine the correlation between PSMD9 rs14259 polymorphism and the risk of DSPN in Turkish DM patients with DPN.

**Methods:** The study included 31 DM patients with DSPN and 29 healthy controls. All participants underwent electrophysiological investigation. In addition, DNA was isolated from peripheral blood samples for the genotyping of PSMD9 rs14259 polymorphism.

**Results:** Mean age in the DSPN and control groups was 58.03±9.59

years and 57.62±12.32 years, respectively. There were significant differences between the DSPN and controls groups in the frequencies of the genotype for AA (n=9 and n=12, respectively), AG (n=10 and n=15, respectively), and GG (n=12 and n=2, respectively). According to the distribution of PSMD9 rs14259 polymorphism, 45.2% (n=28) of the patients and 67.2% (n=39) of the controls had the A allele, and 54.8% (n=34) of the patients and 32.8% (n=19) of the controls had the G allele, whereas the frequency of the G allele of rs14259 was significantly higher in the DSPN group (X<sup>2</sup>=1.059, P=0.015) than in the control group (OR: 2.49; 95% CI: 1.18–5.23).

**Conclusion:** The present findings show that the GG genotype and G allele of PSMD9 rs14259 polymorphism may be associated with an increased risk of DSPN in Turkish DM patients.

**Keywords:** PSMD9, diabetes mellitus, diabetic polyneuropathy, rs14259

**Cite this article as:** Şalçini C, Sunter G, Özen F, Özer Y, Atasever Arslan B. Diyabetik Polinöropati Hastalarında Proteazom Modülatör 9 Geni rs14259 Polimorfizmi. Arch Neuropsychiatry 2021;58:289–291.

## GİRİŞ

Diyabetes mellitus (DM) ve komplikasyonları dünya çapında en önemli sağlık sorunları arasında yer almaktadır. Diyabetik polinöropati (DPN), DM'nin yıkıcı bir kronik nörolojik komplikasyonudur (1). DM hastalarında nöropatiler semptomatoloji, tutulum şekli ve seyrine göre heterojendir.

DPN tipik olarak kronik, uzunluğa bağlı simetrik duysal polinöropatidir (DDPN).

Moleküler mekanizmaları tam olarak bilinmemekle birlikte, hiperglisemiye ve kardiyovasküler ortak değişkenlere yol açan çeşitli metabolik, inflamatuvar ve genetik yollarla ilişkilidir (2, 3). Diyabetik periferik nöropatik ağrı (DPNA), tüm DM hastalarının %7,5-24'ünde görülür ve yaşam kalitesinin düşmesine neden olan majör bir faktördür (4, 5).

Tek nükleotid polimorfizmleri, bir kromozom üzerinde belirli bir pozisyonda farklı nükleotitlere sahip olmanın mümkün olduğu insan genomundaki spesifik nükleotid bölgeleridir (6). PSMD9 (26S proteazom ATPase düzenleyici alt birim 9) geni, NIDDM2 (insüline bağımlı olmayan diyabet, lokus 2) lokusu içinde yer alır. PSMD9 her zaman memeli hücre tiplerinde eksprese edilir ve beyin, lenfatik, endokrin, böbrek ve deri epidermisi dokularında yüksek seviyelerde eksprese edilir (7).

PSMD9, insülin gen transkripsiyonunun bir koaktivatörüdür ve PSMD9 varyantları, insülin transkripsiyonunun bozulmasına neden olarak beta hücre disfonksiyonu ve tip 2 DM ile sonuçlanabilir (8). Ek olarak, PSMD9 varyantları S143G, N166S ve G>A, IVS3+nt102, İtalyan bireylerde geç başlangıçlı tip 2 DM'ye katkıda bulunur (9). Bu çalışmanın amacı Türk DM hastalarında PSMD9 rs14259 polimorfizmi ile DDPN riski arasındaki ilişkiyi belirlemektir.

## METODLAR

### Katılımcılar

Çalışmaya 31 DSPN hastası ve 29 sağlıklı kontrol dahil edildi. Tüm hastalar DM tanısı için ADA (Amerikan Diyabet Derneği) kriterlerini karşıladı. Nörolojik muayene ve elektrofizyolojik çalışmalar İstanbul Beyin Hastanesi ve Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi hastanesinde elektromiyografi makinesi (Medelec Synergy Elektromiyografi Makinesi; Oxford Instruments, Oxford, İngiltere) kullanılarak yapıldı. Tüm katılımcılarda sol median, ulnar motor ve duyu sinirleri ile birlikte bilateral posterior tibial sinirler, ortak peroneal motor sinirler ve bilateral sural ve yüzeyel peroneal duyu sinirleri çalışıldı. Tesfaye ve ark.'na göre hastalar olası, mümkün ve doğrulanmış DSPN olarak sınıflandırıldı. (6). Negatif veya pozitif semptomları, duysal duyusunda simetrik azalma belirtileri veya ayak bileği refleksi anormallikleri olan hastalar olası DSPN olarak kabul edilirken, semptom ve nöropati belirtilerinin bir kombinasyonu (sıralılarından  $\geq 2$ 'si dahil olanlar: nöropatik semptomlar, azalmış distal duyu ve kesin olarak azalmış veya eksik ayak bileği refleksleri) olası DSPN olarak kabul edildi. Sinir iletiminde anormallik (NI) ve nöropati semptomları veya belirtileri olan hastalar, doğrulanmış DSPN olarak kabul edildi.

Kontrol grubu, nöropati veya nöropatik ağrı için risk faktörü olmayan 29 sağlıklı kişiden oluşuyordu. Tüm çalışma prosedürleri Helsinki Bildirgesi'nin etik kurallarına uygundur, çalışma protokolü Üsküdar Üniversitesi Etik Kurulu tarafından onaylandı ve tüm katılımcılar çalışmaya katılmak için yazılı bilgilendirilmiş onam verdi.

### Genotipleme

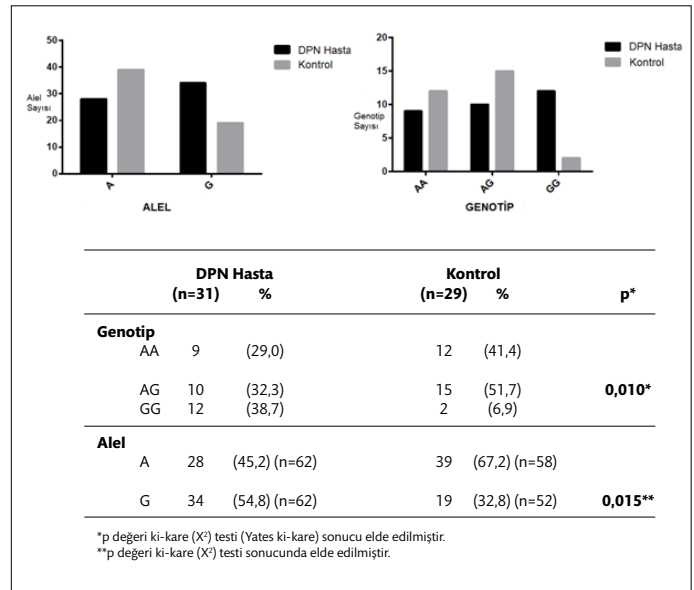
UltraClean BloodSpin DNA İzolasyon Kiti ve TIB MolBiol kiti kullanılarak 60 katılımcının hepsinden elde edilen periferik kan örneklerinden DNA, üreticinin DDPN hastalarında PSMD9 gen rs14259 polimorfizminin genotiplenmesine yönelik talimatlarına göre izole edildi.

## İstatistiksel Analiz

Veriler, IBM SPSS Statistics for Windows v. 21.0 (IBM Corp., Armonk, NY) kullanılarak analiz edildi. Gözlenen genotip frekanslarının önemi, beklenen genotip frekanslarının karşılaştırılması yoluyla Hardy-Weinberg kuralına göre değerlendirildi. Hardy-Weinberg dengesi ki-kare testi kullanılarak değerlendirildi. DDPN hastalarında ve kontrollerde PSMD9 geni rs14259 polimorfizminin lojistik regresyon analizi, dominant, resesif ve aditif olarak ikili lojistik regresyon kullanılarak yapıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $P < 0,05$  olarak ayarlandı. rs14259 polimorfizmi ile DDPN arasındaki ilişkiyi belirlemek için Odds oranları (OR'ler) ve %95 CI'ler kullanıldı.

## SONUÇLAR

DDPN hastalarının ve kontrollerin ortalama yaşı sırasıyla  $58,03 \pm 9,59$  yıl ve  $57,62 \pm 12,32$  yıl idi. DDPN ve kontrol grupları arasında ortalama yaş veya cinsiyet dağılımında anlamlı bir fark yoktu. 31 DDPN hastasının 16'sı DDPN olarak doğrulandı, 10'u olası DDPN olarak kabul edildi ve 5'i muhtemel DDPN olarak kabul edildi. DDPN hastaları ve kontroller arasında AA (sırasıyla  $n=9$  ve  $n=12$ ), AG (sırasıyla  $n=10$  ve  $n=15$ ) ve GG ( $n=12$  ve  $n=2$ , sırasıyla) genotip sıklıklarında anlamlı farklılıklar vardı. Ayrıca GG genotipi DDPN hastalarında daha yaygındı (Şekil 1). DDPN hastaları ve kontrollerinde PSMD9 gen A/G polimorfizmi için genotip frekanslarının dağılımı Hardy-Weinberg dengesi ile uyumluydu (Tablo 1).



Şekil 1. PSMD9 genotip ve alellerinin DDPN ve kontrol grubundaki dağılımı

Tablo 1. DDPN hasta ve kontrollerinde Hardy-Weinberg Denge Testi (HWE) değerleri

	Hardy-Weinberg X <sup>2</sup>	
DSPN Hasta	3,770	0,052
Kontrol	0,878	0,348

Tablo 2. DDPN hastaları ve kontrollerinde PSMD9 rs14259 polimorfizminin lojistik regresyon analizi

Model	OR	(95% CI)	p*
Dominant	1,725	(0,591-5,037)	0,318
Resesif	8,526	(1,708- 42,566)	0,009
Aditif	8,000	(1,420- 45,059)	0,018

\* p değeri ikili lojistik regresyon yoluyla hesaplanmıştır; dominant: dominant model; resesif: resesif model; aditif: aditif model.

PSMD9 geni rs14259 polimorfizminin DDPN dominant, resesif ve rs14259 polimorfizminin aditif modelleri riski üzerindeki etkilerini değerlendirmek için çok değişkenli lojistik regresyon analizi kullanıldı. DDPN ile rs14259 polimorfizmi arasındaki ilişki dominant modele göre araştırıldı; varyant homozigot genotip (GG) ve heterozigot genotip (AG) aynı gruba dahil edilmiş ve homozigot yabancı genotip (AA) ile (GG+AG'ye karşı AA) karşılaştırılmıştır ve bulgular anlamlı bir fark olmadığını göstermiştir. (OR:1,725; %95 GA: 0,591–5,037; P=0,318). Resesif modele göre DDPN ile rs14259 polimorfizmi arasındaki ilişki incelendiğinde (homozigot yabancı genotipi [AA] olanlar ve heterozigot genotipi [AG] olanlar aynı gruba dahil edildi ve varyant homozigot genotipi [GG] olan bireylerle karşılaştırıldığında [GG'ye karşı AG+AA]) GG genotipinin DDPN riskini önemli ölçüde arttırdığı gösterilmiştir. (OR: 8,526; %95 GA: 1,708–42,566; P=0,009) (Tablo 2). rs14259 polimorfizmi ile DDPN arasındaki ilişkinin, varyant homozigot genotipi (GG) ve homozigot yabancı genotipi (AA) olan bireylerin karşılaştırıldığı aditif modele göre analizi, GG genotipine sahip bireylerin anlamlı olarak daha yüksek DDPN riskine sahip olduğunu göstermiştir. (OR:8,000:95% GA: 1,420–45,059; P=0,018) (Tablo 2).

PSMD9 gen rs14259 polimorfizminin dağılımına göre DDPN hastalarının %45,2'sinde (n=28) ve kontrollerin %67,2'sinde (n=39) A alleli saptandı, G alleli ise DSPN hastalarının %54,8'inde (n=34) ve kontrollerin %32,8'inde (n=19) gözlemlendi. Ayrıca, G alelinin sıklığı DDPN grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksekti (OR: 2,49; %95 GA: 1,18–5,23; X2=1,059; P=0,015) (Şekil 1).

## TARTIŞMA

Bu çalışmada Türk DM hastalarında PSMD9 rs14259 polimorfizmi ile DDPN riski arasındaki korelasyonun belirlenmesi amaçlanmıştır. PSMD9, insülin gen transkripsiyonunun bir transkripsiyonel düzenleyicisidir ve varyantlar, beta-hücre disfonksiyonuna neden olarak tip 2 DM'ye katkıda bulunabilir; bu nedenle, transkripsiyonel düzenleyicilerin tek nükleotid polimorfizmleri (SNP), nörotransmitterlerin ve nöronal iyon kanallarının ve bunların reseptörlerinin ekspresyonunu değiştirebilir, bu da DDPN ve nöropatik ağrıya yol açabilir (3, 11, 12). Daha önceki çalışmalarda PSMD9 rs14259 (E197G-A >G) polimorfizminin tip 2 DM, depresyon, şizofreni, anksiyete, gençlerde görülen erişkin tipi diyabet 3/MODY3, obezite, bel çevresi artışı, hipertansiyon, hiperkolesterolemi, tip 2 DM-makrovasküler hastalıklar, tip 2 DM-mikrovasküler hastalık, tip 2 DM-nöropati, tip 2 DM-karpal tünel sendromu, tip 2 DM-nefropati, tip 2 DM-retinopati ve diyabetik olmayan retinopati ile ilişkili olduğu rapor edildi(13-17).

Mevcut çalışmanın sonuçları, kullanılan resesif ve aditif modellere dayalı olarak, rs14259 SNP polimorfizminin DDPN ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu modeller, GG genotipi ile DDPN arasında önemli bir ilişki olduğunu göstermektedir. G alelinin sıklığı DSPN grubunda anlamlı olarak daha yüksekti, bu da G alelinin DDPN riskindeki bir artışla ilişkili olduğunu düşündürdü. Bu çalışmanın resesif modeline göre AG ve AA f genotiplerinin DDPN'ye karşı koruyucu etkisi olabilir. Bu veriler, PSMD9 geninin rs14259 SNP'sinin DDPN ile ilişkili olabileceğini ve rs14259'un G alelinin DDPN gelişimi için bir risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir.

Daha önceki çalışmalarda İtalyan ailelerinde rs14259 polimorfizminin DPN ve tip 2 DM'nin diğer komplikasyonları ile ilişkili olduğu gözlemlenmiştir (13-16). Mevcut bulgular Türk ailelerinde de benzer bir birlikteliğin olduğunu göstermektedir. Bu çalışmanın bulgularındaki ve önceki raporların tutarlılığı, rs14259 polimorfizminin genel olarak mikrovasküler patolojiye ve vasküler patolojiye katkıda bulunabileceğini, ancak mekanizmanın şu anda bilinmediğini göstermektedir.

Mevcut çalışma küçük örneklemle sınırlı olmasına rağmen, bulgular, DDPN hastalarında korelasyonu güçlendiren ve polimorfizm hakkında daha kesin bilgi sağlayan sonuçlar verebilecek elektrofizyolojik araştırmalar kullanarak DDPN hastalarının alt gruplarını değerlendirmek

için tasarlanan gelecekteki araştırmalar için rehberlik sağlar. Ek genetik risk faktörlerinin tanımlanması, DDPN için daha etkili tedavilerin geliştirilmesine yol açabilir ve DDPN'nin erken teşhisine ve önlenmesine yardımcı olabilir.

**Etik Komite Onayı:** Tüm çalışma prosedürleri Helsinki Bildirgesi'nin etik kurallarına uygun olup çalışma protokolü Üsküdar Üniversitesi Etik Kurulu tarafından (14.01.2016 tarih ve 61351342/2016/05 sayılı karar) onaylanmıştır.

**Hasta Onamı:** Tüm katılımcılar çalışmaya katılmak için yazılı bilgilendirilmiş onam vermiştir.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış Bağlıdır.

**Yazar Katkıları:** Fikir- BAA, ÇŞ; Tasarım- BAA, ÇŞ; Denetleme- ÇŞ, GS; Kaynaklar- BAA, ÇŞ, GS; Malzemeler- ÇŞ, GS; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi- BAA, ÇŞ, GS, YÖ, FÖ; Analiz ve/veya Yorum- BAA, ÇŞ, YÖ; Literatür Taraması- BAA, ÇŞ; Yazıyı Yazan- BAA, ÇŞ; Eleştirel İnceleme- BAA, ÇŞ.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar, burada sunulan materyalle ilgili mali veya başka bir çıkar çatışması olmadığını bildirmişlerdir.

**Finansal Destek:** Bu çalışmaya herhangi bir dış finansman kaynağı verilmemiştir.

## REFERANSLAR

- Edwards KL, Alvarez C, Irons BK, Fields J. Third-line agent selection for patients with type 2 diabetes mellitus uncontrolled with sulfonylureas and metformin. *Pharmacotherapy* 2008;28:506–521. [Crossref]
- Boulton AJ, Vinik AI, Arezzo JC, Bril V, Feldman EL, Freeman R, Malik RA, Maser RE, Sosenko JM, Ziegler D. Diabetic neuropathies: a statement by the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 2005;28:956–962. [Crossref]
- Salcini C, Atasever-Arslan B, Sunter G, Gur H, Isik FB, Saylan CC, Yalcin AD. High Plasma Pentraxin 3 Levels in Diabetic Polyneuropathy Patients with Nociceptive Pain. *Tohoku J Exp Med* 2016;239:73–79. [Crossref]
- Russell JW, Zilliox LA. Diabetic neuropathies. *Continuum (Minneapolis)* 2014;20:1226–1240. <https://doi.org/10.1212/01.con.0000455884.29545.d2>
- Zilliox L, Russell JW. Treatment of diabetic sensory polyneuropathy. *Curr Treat Options Neurol* 2011;13:143–159. [Crossref]
- Cotton CM, Murray JC. The Human Genome and Neonatal Care. In: Gleason C, Juul S, editors. *Avery's Diseases of the Newborn* (10th ed.). Elsevier; 2018. pp.180–189.
- Hopper LJ, Begum N, Smith L, Hughes AT. The role of PSMD9 in human disease: future clinical and therapeutic implications. *AIMS Mol Sci* 2015;2:476–484. [Crossref]
- Thomas MK, Yao KM, Tenser MS, Wong GG, Habener JF. Bridge-1, a novel PDZ-domain coactivator of E2A-mediated regulation of insulin gene transcription. *Mol Cell Biol* 1999;19:8492–504. [Crossref]
- Gagnoli C, Cronsell J. PSMD9 gene variants within NIDDM2 may rarely contribute to type 2 diabetes. *J Cell Physiol* 2007;212:568–571. [Crossref]
- Tesfaye S, Boulton AJ, Dyck PJ, Freeman R, Horowitz M, Kempner P, Lauria G, Malik RA, Spallone V, Vinik A, Bernardi L, Valensi P; Toronto Diabetic Neuropathy Expert Group. Diabetic neuropathies: update on definitions, diagnostic criteria, estimation of severity, and treatments. *Diabetes Care* 2010;33:2285–2293. [Crossref]
- Basic-Kes V, Zavoreo I, Bosnar-Puretic M, Ivankovic M, Bitunjac M, Govori V, Demarin V. Neuropathic pain. *Acta Clin Croat* 2009;48:359–365.
- Dworkin RH, Backonja M, Rowbotham MC, Allen RR, Argoff CR, Bennett GJ, Bushnell MC, Farrar JT, Galer BS, Haythornthwaite JA, Hewitt DJ, Loeser JD, Max MB, Saltarelli M, Schmader KE, Stein C, Thompson D, Turk DC, Wallace MS, Watkins LR, Weinstein SM. Advances in neuropathic pain: diagnosis, mechanisms, and treatment recommendations. *Arch Neurol* 2003;60:1524–1534. [Crossref]
- Gagnoli C. PSMD9 is linked to type 2 diabetes neuropathy. *J Diabetes Complications* 2011;25:329–331. [Crossref]
- Gagnoli C. Proteasome modulator 9 is linked to microvascular pathology of T2D. *J Cell Physiol* 2012;227:3116–3118. [Crossref]
- Gagnoli C. Proteasome modulator 9 and depression in type 2 diabetes. *Curr Med Chem* 2012;19:5178–5180. [Crossref]
- Gagnoli C. Proteasome modulator 9 gene SNPs, responsible for antidepressant response, are in linkage with generalized anxiety disorder. *J Cell Physiol* 2014;229:1157–1159. [Crossref]
- Hao H, Haas MJ, Wu R, Gagnoli C. T2D and Depression Risk Gene Proteasome Modulator 9 is Linked to Insomnia. *Sci Rep* 2015;5:12032. [Crossref]