مجله دیابت و لیپید ایران. بهار ۱۳۸۸؛ دوره ۸(شماره ۳) ۲۵۲-۲۴۷

# بررسی ارتباط پلی مورفیسم ژن CXCL5 با دیابت

شیرین حسنی رنجبر[۱]، پروین امیری[۱]، مهسا نمکچیان[۱]، رامین حشمت[۱]، محمدعلی سجادی[۲]، محمدرضا میرزایی[۲]،ابراهیم رضازاده[۲]، پریسا بالائی[۲]، جواد توکلی بزاز[۱]، شبنم عباس زاده اهرنجانی[۱]، باقر لاریجانی[۱]، مهسا محمد آملی*[۱]

## چکیده

**مقدمه:** ژن CXCL5 که به بیان دیگر پپتید فعال کننده نوتروفیل ازمنشا سلول‌های اپیتلیال (Epithelial cell-derived neutrophil-activating peptide,ENA-78) نامیده می شود؛ کموکینی است که در بروز بیماری‌های قلبی-عروقی و برخی دیگر از بیماری‌ها نقش دارد. ما قبلا توالی کامل ژن CXCL5 را اسکن کرده و پلی مورفیسم (rs352046) 156G/C- را در منطقه پروموتور این ژن گزارش کرده ایم. هدف از این مطالعه تعیین وجود و یا عدم وجود ارتباط بین این پلی مورفیسم و بیماری دیابت یا عوارض ماکروسکولار آن در مقایسه با جمعیت کنترل سالم ایرانی می باشد.

**روش‌ها :** در این مطالعه۲۳۰ نفر از افراد دیابتی ساکن شهر رفسنجان وارد طرح شده و به عنوان گروه شاهد، ۱۰۲ نفر از افراد سالم ساکن همان منطقه انتخاب شدند.

**یافته‌ها :** در این مطالعه افراد دیابتی در مقایسه با گروه شاهد فراوانی بیشتری از نظر ژنوتیپ CC یا GC نشان دادند (CG+CC vs. GG P=0.004, OR= 2.17, 95%CI; 1.27-3.80).همچنین فراوانی آلل C به طور قابل ملاحظه ای در بیماران دیابتی بیشتر از گروه شاهد به دست آمده است.(p=0.01 OR 1.72 95%CI; 1.07-2.86) .در این مطالعه ارتباط خاصی بین این پلی مورفیسم و عوارض ماکروواسکولار دیابت یافت نشد.

**نتیجه‌گیری:** یافته های این مطالعه، نشان دهنده نقش CXCL5 در پاتوژنز دیابت هستند. سازوکار این دخالت باید مورد بررسی بیشتر قرار گیرد. همچنین تکرار این مطالعه در جمعیت با حجم نمونه بالا جهت تایید این یافته ها پیشنهاد می گردد.

**واژگان کلیدی** : پلی مورفیسم، ژن CXCL5، دیابت

۱- مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۲- دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

* ***نشانی:*** تهران، خیابان کارگر شمالی، بیمارستان شریعتی، مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران، کدپستی: ۱۴۱۱۴ ، تلفن: ۳۸-۸۸۲۲۰۰۳۷ ، فاکس: ۸۸۲۲۰۰۵۲، پست الکترونیک: emrc@tums.ac.ir

**تاریخ دریافت:۸۷/۱۰/۵** **تاریخ پذیرش: ۸۸/۲/۲۳**

**نسخه انگلیسی این مقاله در مجله Molecular Diagnosis and Therapy 2008;12(6):391-4 منتشر شده است.**

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-05-04 ]

## مقدمه

ژن CXCL5 که به بیان دیگر پپتید فعال کننده نوتروفیل ازمنشا سلول‌های اپیتلیال (Epithelial cell-derived neutrophil-activating peptide,ENA-78) نامیده می شود؛ متعلق به زیر خانواده کموکین‌ها بوده و بعد از تحریک توسط سیتوکین های پیش التهابی مثل IL-1β و α -TNF ، توسط سلول‌های اپیتلیال بروز پیدا کرده و سبب جذب نوتروفیل‌های پلی مورفونوکلوئر (PMN) می گردد[۱].

Zimmerman و همکارانش نشان دادند که CXCL5 توسط سلول‌های تحریک شده اندوتلیال در ریه و سایر بافت‌های انسان نیز آزاد شده و می تواند در کنار IL-8 ، سبب ایجاد فعالیت Pro – adhesive نوتروفیل ها شود [۲]. سطوح بالایی از CXCL5 در افراد مبتلا به پانکراتیت مزمن در مقایسه با افراد سالم دیده می شود و همچنین سطوح آن در پانکراتیت حاد افزایش پیدا می کند و بیان کننده در گیر بودن این کموکین در هر دو مرحله ابتدایی و سیر بیماری می باشد[۳و۴].

این ژن همچنین به عنوان یک کموکین مهم در برخی بیماری‌های التهابی مانند بیماری کرون ، کولیت اولسرو و آرتریت روماتویید مشاهده شده است.[۵و۶] از طرف دیگر ، تولید CXCL5 از سلول‌های اندوتلیال در پاسخ به آتورواستاتین کاهش پیدا کرده است که بیانگر نقش احتمالی این ژن در پاسخ به داروهای قلبی عروقی است [۷].

ژن CXCL5 بر روی کروموزوم 4q13-q21 در مکانی یکسان با سایر زیرخانواده های ژن CXC قرار گرفته است و شامل ۴ اگزون و ۳ انترون است وساختاری مشابه با IL-8 دارد[۸].

ما قبلا توالی کامل ژن را اسکن کردیم و دو پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNPs) را در ناحیه پروموتور -156G/C (rs352046) و دیگری (rs 425535) G/A 398 واقع در اگزون ۲ که همنام بودند را گزارش کردیم [۹]. فراوانی ژنوتیپ و آلل این پلی مورفیسم در جمعیت آمریکایی و اروپایی گزارش شده است [۱۱-۹].

همچنین نقش عملکردی برای پلی مورفیسم -156 G/C توضیح داده و نشان داده شده است که حامل‌های مختلف آلل C دارای مقادیر بالایی از غلظت CXCL5 در گردش خون و همچنین بر روی لکوسیت ها هستند [۱۲]. هدف این مطالعه بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم پروموتور CXCL5 -156G/C (rs352046) و دیابت نوع ۲ یا عوارض ماکروسکولار آن در مقایسه با افراد سالم ایرانی است.

## روش‌ها

### خصوصیات افراد

گروه مطالعه در این تحقیق شامل ۲۳۰ نفر از افراد دیابتی مراجعه کننده به بیمارستان علی ابن ابی‌طالب دانشگاه رفسنجان بودند و جمعیت کنترل را ۱۲۰ نفر از افراد سالم همین منطقه تشکیل می‌دادند.

تمام افراد شرکت کننده دراین طرح از منطقه فارس زبان بودند. ترکیب جمعیتی در این منطقه نادر است . افراد با قومیت‌های دیگر در این مطالعه وارد نشدند.

بعد از ثبت و تهیه داده های دموگرافیک واطلاعات فردی ، ۵-۳ سی سی از خون وریدی افراد شرکت کننده در طرح گرفته شده و در لوله های EDTA جمع آوری شده و در ۲۰°C- جهت استخراج DNA نگهداری شدند.این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه تهران تصویب شده و فرم رضایتنامه جهت تمام بیماران شرکت کننده در طرح تکمیل گردید.

### معیارهای تشخیصی

در این بیماران تشخیص دیابت بر اساس معیارهای انجمن دیابت آمریکا (ADA) گذاشته شد. رتینوپاتی دیابتی توسط یک پزشک متخصص چشم و توسط معاینه افتالموسکوپی تشخیص داده شد. جهت بررسی نفروپاتی دیابتی ، میکروآلبومینوری ادرار بررسی و اگر در بیش از ۲ تا ۳ نمونه بیش از ۳۰ میلی گرم در ۲۴ ساعت آلبومین دفع شده بود، با حذف سایر علل مسبب پروتیین اوری ، تشخیص نفروپاتی دیابتی گذارده شد. جهت تشخیص نوروپاتی، از علایم یافت شده توسط پزشک و بیمار مطابق

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-05-04 ]

با معیارهای بررسی عوارض و کنترل دیابت استفاده گردید [۱۳]. بیماران با زخم پای نوروپاتیک ، در دسته نوروپاتی قرار گرفتند.

### استخراج DNA و تعیین ژنوتیپ

DNA از نمونه های خون جمع آوری شده در لوله های EDTA با روش Salting Out استخراج شد. تعیین ژنوتیپ با روش PCR-RFLP انجام شد و از پرایمرهای ذیل استفاده شد:

Forward-5′-CTCCTCCTGGCCACCCTCGC-3′
Reverse-5′-TCAAGCTTTGGGATGCTGGGGGA-3′

چرخه های PCR به صورت ذیل شرح داده شد: 95ºC برای ۱۵ دقیقه که با ۴۰ چرخه از ºC ۹۵ برای ۳۰ ثانیه ادامه یافت، ºC ۶۰ برای ۳۰ ثانیه و ºC ۷۲ برای ۳۰ ثانیه و گسترش نهایی با درجه حرارت ºC ۷۲ برای ۷ دقیقه پایان یافت.

محصول نهایی فرآورده PCR ( ۱۱۴ جفت باز) بر روی ژل آگارز ۲٪ آغشته شده به اتیدیوم بروماید مورد بررسی قرار گرفت. محصول PCR با آنزیم Restriction Endonuclease Nur1 تجزیه گردید. محصول تجزیه شده برای مدت ۲۴ ساعت تحت حرارت ۳۷ºC انکوبه شد.آنزیم Restriction Endonuclease Nur1 سبب هضم و تجزیه فرآورده PCR شده و در صورت وجود آلل G سبب ایجاد قطعات DNA از ۱۹ و ۹۵ جفت باز می شود. سپس محصولات هضم شده بر روی ژل ۳/۵٪ آگارز آغشته شده به اتیدیوم بروماید مشاهده می گردند.

نتایج حاصل از این تعیین ژنوتیپ ، توسط استفاده از نمونه های با ژنوتیپ مشخص از جمعیت اسپانیا و آمریکا و سیستم‌های Pyrosequencing و Taqman قابل تکرار بودند.

### آنالیز آماری

ارتباط بین گروهای مختلف و آلل ها یا ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم ژن CXCL5 با استفاده از نسبت شانس ( odds ratio (OR و ضریب اطمینان ۹۵٪ برآورد گردید که با استفاده از آنالیز Chis-quare و Fisher exact تعیین شد. تمام آنالیزها با استفاده ازنرم افزار STATA (ویرایش ۸) صورت گرفت.

## یافته‌ها

نسبت مرد به زن در گروه بیماران دیابتی ۶۹/۱۶۱ و در گروه کنترل ۶۲/۴۰ بود. میانگین سنی در گروه دیابتی ۱۰±۵۳ سال و در گروه کنترل ۱۰±۵۰ سال بود. میانگین BMI در افراد دیابتی ۴±۲۷ و در افراد کنترل ۳±۲۳ برآورد شد.

*فراوانی آلل و ژنوتیپ پلی مورفیسم ژن CXCL5 در بیماران دیابتی در مقایسه با گروه کنترل سالم:* در این مطالعه فراوانی آلل و ژنوتیپ پلی مورفیسم CXCL5 – 156G/C در هر دو جمعیت بیماران و گروه کنترل از موازنه Hardy-Weiberg مطابقت می کند.

در مقایسه با فراوانی پلی مورفیسم ژن CXCL5 در بیماران دیابتی و افراد سالم ؛ مشاهده شد که فراوانی افراد دارای ژنوتیپ GC یا CC در گروه دیابتی در مقایسه با گروه کنترل بیشتر است(۳/۸۰–۱/۲۷ :CI ۹۵٪ ۲/۱۷ OR ، CG+CC vs. GG P=۰/۰۰۴) (جدول ۱) پس از مطابقت نمودن جهت پارامترهای سن ، BMI و جنسیت با استفاده ازآنالیز رگرسیون (۳/۶۲–۱/۰۸ :CI ۹۵٪ ۱/۹۸ OR)، این ارتباط همچنان معنی دار باقی ماند. همچنین، فراوانی آلل C به طور معنی داری در افراد دیابتی در مقایسه با گروه سالم افزایش داشت (۲/۸۶–۱/۰۷ :CI ۹۵٪ ۱/۷۲ OR، P=۰/۰۱) (جدول۱).

*فراوانی آلل و ژنوتیپ پلی مورفیسم ژن CXCL5 در بیماران دیابتی مبتلا به عوارض دیابت در مقایسه با افراد بدون عوارض دیابتی:* اختلاف معنی داری در فراوانی آلل و ژنوتیپ پلی مورفیسم CXCL5 -156G/C در بیماران با و بدون نوروپاتی یا رتینوپاتی دیابتی دیده نشد (جدول۲). با این وجود، فراوانی ژنوتیپ GC در بیماران مبتلا به نفروپاتی افزایش داشت(۴۵٪) ولی وقتی این گروه با افراد بدون نفروپاتی مقایسه شدند، اختلاف معنی داری به دست نیامد(جدول۲).

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-05-04 ]

**جدول ۱- فراوانی آلل و ژنوتیپ پلی مورفیسم CXCL5 -156 G/C در افراد دیابتی نوع ۲ و گروه کنترل**

| تعداد بیماران | گروه دیابتی (n =۲۳۰) | گروه کنترل (n =۱۰۲) |
|---|---|---|
| ژنوتیپ* | | |
| GG | ۱۴۱(۶۱٪) | ۷۹ (٪۷۷) |
| GC | ۸۲ (٪۳۶) | ۱۹ (٪۱۹) |
| CC | ۷ (٪۳) | ۴ (٪۴) |
| آلل†(2N) | | |
| G | ۳۶۴ (٪۷۹) | ۱۷۷ (٪۸۷) |
| C | ۹۶ (٪۲۱) | ۲۷ (٪۱۳) |

* GC+CC vs GG, P=۰/۰۰۴ OR ۲/۱۷, ٪۹۵ CI; ۱/۲۷-۳/۸۰

† Allele C vs. Allele G, P=۰/۰۱ OR ۱/۷۲, ٪۹۵ CI;۱/۰۷-۲/۸۶

**جدول ۲- فراوانی ژنوتیپ پلی مورفیسم CXCL5 -156 G/C در افراد دیابتی با و بدون نوروپاتی ، نفروپاتی و رتینوپاتی**

| ژنوتیپ | GG | GC | CC |
|---|---|---|---|
| وجود نوروپاتی | ۹۳ (٪٦٤) | ٤٨ (٪۳۳) | ٥ (٪۳) |
| عدم وجود نوروپاتی | ٤٦ (٪٥٨) | ۳۲ (٪٤٠) | ۲ (٪۲) |
| وجود نفروپاتی | ۱۱ (٪٥٥) | ۹ (٪٤٥) | ۰(٪۰) |
| عدم وجود نفروپاتی | ۱۲۳ (٪٦۳) | ۶۷ (٪۳۴) | ٦ (٪۳) |
| وجود رتینوپاتی | ۲٦ (٪٦٦) | ۱۲ (٪۳۱) | ۱(٪۳) |
| عدم وجود رتینوپاتی | ۱۰۸ (٪٦۲) | ٦۲ (٪۳٥) | ٥ (٪۳) |

* مقادیر P در هیچ یک از مقایسه‌ها معنی‌دار نبود (P> ۰/۰۵).

## بحث

در این مطالعه ما ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسم پروموتور CXCL5 -156 C و دیابت در جمعیت ایرانی به دست آوردیم در حالی که ارتباطی بین این پلی مورفیسم و نوروپاتی، نفروپاتی یا رتینوپاتی دیابتی یافت نشد. با این وجود، فراوانی ژنوتیپ GC به طور نسبی در افراد با نفروپاتی دیابتی بیشتر بود. این یافته می تواند با حجم نمونه پایین این مطالعه تفسیر شود.در گزارش اخیر Zineh و همکارانش در مورد کاربرد عملی این پلی مورفیسم ، آنها افزایش غلظت پلاسمایی CXCL5 را در افراد حامل آلل C یافته اند[۱۲]. همچنین آنها اثر آلل C در تولید CXCL5توسط لکوسیت ها را نشان داده اند[۱۲].

درمطالعات گذشته هیچ ارتباط معنی داری بین این پلی مورفیسم و واسکولیت اولیه در جمعیت اسپانیایی دیده نشده است[۱۱]. گزارش‌های قبلی ، فراوانی این پلی

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-05-04 ]

مورفیسم را در جمعیتهای آمریکایی، اسپانیایی و انگلیسی تشریح کرده‌اند. فراوانی آلل و ژنوتیپ در هر سه جمعیت یکسان بوده است. [۱۱-۹]. فراوانی آلل‌های مختلف در جمعیت سالم ایرانی اندکی کمتر به دست آمده است( ۱۳٪ برای آلل C در مقابل ۱۶ ٪ در سایر جمعیت‌ها).

ارتباط یافت شده بین پلی مورفیسم ژن CXCL5 و دیابت در این مطالعه ، نشان دهنده نقش جدید آن در دیابت می باشد که ممکن است از طریق فعال سازی نوتروفیل باشد. سازوکار CXCL5 در پاتوژنز دیابت باید مورد بررسی بیشتر قرار گیرد. ضمنا تکرار مطالعه در سایر جمعیت‌ها و با حجم نمونه بیشتر جهت تایید داده های مشاهده شده در این مطالعه مورد نیاز است.

## ماخذ


1- Walz A, Burgener R, Car B, et al. Nucleotide Structure and neutrophil-activating properties of a novel inflammatory peptide (ENA-78) with homology to interleukin 8. *J Exp Med* 1991; 174:1355-62.

2- Imaizumi T, Albertine KH, Jicha DL, et al.Human endothelial cells synthesize ENA-78: relationship to IL-8 and to signaling of PMN adhesion. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997;17:181-92.

3- Saurer L, Reber P, Schaffner T, et al., Differential expression of chemokines in normal pancreas and in chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 2000; 118: 356–367.

4- Shokuhi S, Bhatia M, Christmas S, et al. Levels of the chemokines growth-related oncogene alpha and epithelial neutrophil-activating protein 78 are raised in patients with severe acute pancreatitis. *Br J Surg* 2002; 89: 566–572.

5- Koch AE, Kunkel SL, Harlow LA, et al.Epithelial neutrophil activating peptide-78: a novel chemotactic cytokine for neutrophils in arthritis. *J Clin Invest* 1994;94:1012-8.

6- Walz A, Schmutz P, Mueller C, Schnyder-Candrian S.Regulation and function of the CXC chemokine ENA-78 in monocytes and its role in disease. *J Leukoc Biol* 1997;62:604-11.

7- Zineh I, Luo X, Welder GJ, et al. Modulatory effects of atorvastatin on endothelial cell-derived chemokines, cytokines, and angiogenic factors. *Pharmacotherapy* 2006 Mar;26(3):333-40.

8- Chang MS, McNinch J, Basu R, et al.Cloning and characterization of the human neutrophil-activating peptide (ENA-78) gene. *J Biol Chem* 1994; 269: 25277-82.

9- Amoli MM, Larijani B, Thomson W, et al. Two polymorphisms in the epithelial cell-derived neutrophil-activating peptide (ENA-78) gene. *Dis Markers* 2005; 21(2): 75-7.

10- Zineh I, Welder GJ, Langaee TY. Development and cross-validation of sequencing-based assays for genotyping common polymorphisms of the CXCL5 gene. *Clin Chim Acta* 2006; 370(1-2):72-5.

11- Amoli MM, Ollier WE, Gonzalez-Gay MA. Lack of association of epithelial cell-derived neurophil-activating peptide (ENA)-78 gene polymorphism with susceptibility to biopsy-proven giant cell arteritis. *Clin Exp Rheumatol* 2007;25(1 Suppl 44):S40.

12- DCCT Research group. Factors in development of diabetic neuropathy. Baseline analysis of neuropathy in feasibility phase of Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). The DCCT Research Group. *Diabetes* 1988 ;37(4):476-81.

13- Zineh I, Aquilante CL, Langaee TY, et al. CXCL5 gene polymorphisms are related to systemic concentrations and leukocyte production of epithelial neutrophil-activating peptide (ENA-78). *Cytokine* 2006 7;33(5):258-63.


[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-05-04 ]

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-05-04 ]