

Analysis of rs7526084 polymorphism in 3' downstream of the sestrin 2 gene as an informative marker for molecular diagnosis of kidney stone disease

Parvasi E¹, Nasiri M^{1*}, Irani D²

1- Department of Biology, Arsanjan Branch, Islamic Azad University, Arsanjan, I. R. Iran.

2- Department of Surgery, Shaheed Faghihi Hospital, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, I. R. Iran.

Received March 15, 2017; Accepted July 4, 2017

Abstract:

Background: Kidney stone disease is one of the most common disorders of urinary tract, manifesting with high clinical and genetic heterogeneity in population. Sestrin 2 is involved in many essential processes, especially oxidative and genotoxic stress. Regarding the importance of oxidative stress pathway deregulation in systemic diseases such as kidney disorders, this study was conducted to investigate the association between rs7526084 3' downstream polymorphism of the sestrin 2 gene and risk of kidney stone in south Iranian patients.

Materials and Methods: In this case-control study, 150 patients with kidney stone disease and 180 age- and gender-matched healthy individuals were participated from March to December 2015. Genotyping of the rs7526084 polymorphism was performed using the T-ARMS PCR method.

Results: Frequency of the G allele was higher in controls than in cases, and a reduced risk of the disease was shown in the presence of this allele (OR: 0.66, 95%CI: 0.48-0.91, $P=0.01$). Also, the risk of the disease was reduced in the presence of heterozygote CG (OR: 0.49, 95%CI: 0.30-0.80, $P=0.004$) and homozygote GG (OR: 0.47, 95%CI: 0.23-0.96, $P=0.04$) genotypes. Under the dominant genetic model for the G allele (GG+GC vs. CC), this allele significantly reduced the risk of the disease (OR: 0.49, 95%CI: 0.31- 0.78, $P= 0.002$).

Conclusion: Reduced risk of kidney stone in the presence of the G allele of the sestrin 2 gene polymorphism might provide the evidence in favor of the involvement of the oxidative stress pathway in the pathogenesis of kidney stone disease.

Keywords: Kidney stone disease, Oxidative stress, Sestrin 2, Polymorphism

* Corresponding Author.

Email: nasiri@iaua.ac.ir

Tel: 0098 917 301 0601

Fax: 0098 71 435 22483

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, October, 2017; Vol. 21, No 4, Pages 376-382

Please cite this article as: Parvasi E, Nasiri M, Irani D. Analysis of rs7526084 polymorphism in 3' downstream of the sestrin 2 gene as an informative marker for molecular diagnosis of kidney stone disease. *Feyz* 2017; 21(4): 376-82.

بررسی پلی مورفیسم rs7526084 در ناحیه ۳ پایین دست ژن سسترتین ۲ به عنوان یک مارکر گویا در مطالعه مولکولی بیماری سنگ کلیه

الهام پرواسی^۱، محبوبه نصیری^{۱*}، داریوش ایرانی^۲

خلاصه:

سابقه و هدف: بیماری سنگ کلیه یکی از شایع ترین اختلالات مجاری ادراری است که با هتروژنتی بالینی و ژنتیکی بالا در جمعیت بروز می نماید. سسترتین ۲ در مسیرهای حیاتی گسترده ای، به خصوص استرس اکسیداتیو و ژنوتوکسیک، درگیر می باشد. با توجه به اهمیت تنظیم نامناسب مسیر استرس اکسیداتیو در بیماری های سیستمیک مانند ناهنجاری های کلیوی، این مطالعه با هدف بررسی ارتباط پلی-مورفیسم rs7526084 در ناحیه ۳ پایین دست ژن سسترتین ۲ و ریسک بروز سنگ کلیه در بیماران جنوب ایران انجام شد.

مواد و روش ها: در این مطالعه مورد-شاهدی، ۱۵۰ فرد مبتلا به سنگ کلیه و ۱۸۰ فرد سالم که از نظر سن و جنس همسان سازی شده بودند، در فاصله زمانی فروردین تا دی ماه ۱۳۹۴ شرکت داده شدند. تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسم rs7526084 با استفاده از روش T-ARMS PCR صورت گرفت.

نتایج: فراوانی آلل G در افراد گروه کنترل بالاتر از افراد گروه بیمار بود و در حضور این آلل ریسک بروز بیماری کاهش نشان داد ($P=0/01$)، $OR: 0/48-0/91$ CI: ۹۵ درصد، $OR: 0/66$). همچنین، در حضور ژنوتیپ های هتروزیگوت CG ($P=0/004$)، $OR: 0/30-0/80$ CI: ۹۵ درصد، $OR: 0/49$) و هموزیگوت GG ($P=0/04$)، $OR: 0/23-0/96$ CI: ۹۵ درصد، $OR: 0/47$) کاهش خطر بروز سنگ کلیه دیده شد. تحت مدل ژنتیک غالب برای آلل G (GG+GC در مقابل CC)، این آلل خطر بروز بیماری را به طور قابل توجهی کاهش داد ($P=0/002$)، $OR: 0/31-0/78$ CI: ۹۵ درصد، $OR: 0/49$).

نتیجه گیری: کاهش خطر بروز سنگ کلیه در حضور آلل G از پلی مورفیسم ژن سسترتین ۲ احتمالاً مدرکی دال بر دخالت مسیر استرس اکسیداتیو در پاتوژنز سنگ کلیه می باشد.

واژگان کلیدی: بیماری سنگ کلیه، استرس اکسیداتیو، سسترتین ۲، پلی مورفیسم

دو ماه نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و یکم، شماره ۴ مهر و آبان ۱۳۹۶، صفحات ۳۸۲-۳۷۶

مقدمه

سن، جنسیت، جغرافیا، شرایط آب و هوایی، فعالیت بدنی، استعمال سیگار و رژیم غذایی از مهم ترین عوامل محیطی در بروز بیماری سنگ کلیه شناخته شده اند [۵]. دفع سموم مانند فلزات سنگین از جمله جیوه و سرب، اشعه ها و عوامل عفونی، آنتی بیوتیک ها، ترکیبات موجود در سیگار و ترکیبات شیمی درمانی منجر به القای استرس اکسیداتیو در کلیه ها می شوند و این اندام را به آسیب اکسیداتیو بسیار حساس می کنند [۷، ۶]. مسیر استرس اکسیداتیو حاصل برهم خوردن توازن بین تولید پراکسیدانت و آنتی اکسیدانت-ها می باشد که علاوه بر مداخله با جریان طبیعی اطلاعات ژنتیکی از طریق اکسید کردن DNA و RNA، به ماکرومولکول های دیگر مانند پروتئین و لیپید نیز آسیب می رساند [۸]. تجمع آسیب اکسیداتیو ماکرومولکولی منجر به پیری سلول، پیری بافت و کاهش طول عمر مانند تحلیل عصبی [۹] و بیماری های متابولیک که از جمله بیماری های مرتبط با سن هستند، می شود [۱۰]. حضور یک سیستم آنتی اکسیدانت دفاعی آنزیمی و یا غیر آنزیمی در بیشتر سلول ها، موجودات را در برابر آسیب های ناشی از استرس اکسیداتیو محافظت می نماید [۱۱]. سسترتین ۲ یک خانواده ژنی منحصر به فرد شامل سه عضو سسترتین ۱، سسترتین ۲ و سسترتین ۳

پس از عفونت های ادراری و بیماری های پروستات، سنگ کلیه سومین بیماری شایع دستگاه ادراری محسوب می شود [۱]. متوسط شیوع سنگ کلیه در ایران حدود ۵/۷ درصد برآورده شده است که در مردان با فراوانی ۴ برابر نسبت به زنان بروز می کند [۲]. مطالعات خانوادگی نشان داده است که خویشاوندان بیماران مبتلا به سنگ کلیه نسبت به افراد جمعیت عمومی استعداد بیش-تری برای بروز سنگ کلیه دارند [۳]. وجود تجمع خانوادگی برای این بیماری انعکاسی از دخالت عوامل ژنتیکی و محیطی متعدد در بروز بیماری می باشد [۴].

^۱ گروه زیست شناسی، واحد ارسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، ارسنجان

^۲ بخش جراحی، بیمارستان شهید فقیهی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز

* نشانی نویسنده مسئول:

استان فارس، ارسنجان، بلوار دانشگاه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، گروه

زیست شناسی، کد پستی: ۷۳۷۶۱۵۳/۱۶۱

دوره نویس: ۰۷۱ ۴۳۵۲۲۴۸۳

تلفن: ۰۹۱۷۳۰۱۰۶۰۱

پست الکترونیک: nasiri@iaua.ac.ir

تاریخ پذیرش نهایی: ۹۶/۴/۱۳

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۲/۲۵

بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. میانگین سن افراد بیمار ۴۶/۵±۱۳/۹ سال با دامنه سنی ۲۳-۹۰ سال و میانگین سن افراد سالم ۴۷/۰۲±۱۴/۳۲ سال با دامنه سنی ۸۶-۲۰ سال بود. تمام بیماران از بخش جراحی بیمارستان شهید فقیهی شیراز از بین افرادی که تحت درمان با روش پركوتانتوس نفرولیتوتومی (PCNL) قرار گرفته بودند، انتخاب شدند. با گرفتن شرح حال و کسب اطلاعات فردی و بالینی از افراد مراجعه کننده به آزمایشگاه بیمارستان و افراد جمعیت عمومی، گروه کنترل تعیین و نمونه‌گیری شدند. تمام افراد انتخاب شده برای گروه کنترل فاقد سابقه بیماری‌های کلیوی و از جمله سنگ کلیه بودند. اطلاعات آنروپو-متریک (تن‌سنجی)، سن، وجود سابقه خانوادگی برای بیماری سنگ کلیه و استعمال دخانیات به صورت مصاحبه حضوری از تک تک افراد شرکت‌کننده در پژوهش پرسیده شد و اطلاعات مربوط به ترکیب تشکیل دهنده سنگ نیز با بررسی پرونده بیمار استخراج گردید و در پرسشنامه استاندارد که تهیه گردیده بود ثبت شد. پس از تکمیل فرم رضایت‌نامه شرکت آگاهانه در تحقیق زیر نظر کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شیراز، ۵ سی‌سی نمونه خون محیطی از کلیه افراد بیمار و سالم گرفته شد و نمونه‌های خون در لوله‌های حاوی ماده ضدانعقاد EDTA تا شروع مراحل کار آزمایشگاهی در فریزر ۲۰- درجه نگهداری شدند.

روش استخراج DNA و تعیین ژنوتیپ

در این مطالعه DNA ژنومی با استفاده از کیت استخراج DNA (YT9040، یکتاتجهیز آزما، ایران) استخراج گردید. تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها برای جایگاه مارکر پلی‌مورفیسم rs7526084 در ژن سسترین ۲ با روش T-ARMS PCR (-Tetra-primer amp) لایفیکیشن رفرکتوری (lification refractory mutation system PCR) انجام شد. این تکنیک روشی ساده و کم‌هزینه جهت تعیین ژنوتیپ پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی می‌باشد [۱۸]. توالی پرایمرهای طراحی شده با نرم‌افزار پرایمر ۱ برای تکثیر آلل‌های این جایگاه در جدول شماره ۱ آورده شده است. اجزای واکنش نهایی T-ARMS PCR در حجم نهایی ۱۲/۵ میکرولیتر، شامل ۱ میکرولیتر DNA ژنومی، ۱ میکرولیتر آب مقطر استریل، ۰/۷۵ میکرولیتر از جفت پرایمرهای خارجی (FO, RO)، ۱ میکرولیتر از جفت پرایمرهای داخلی (FI, RI) و ۶/۲۵ میکرولیتر Master mix (یکتاتجهیز آزما، ایران) تهیه شد. شرایط دمایی دستگاه ترموسایکلر (Applied Biosystem, USA) شامل واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه، ۳۵ چرخه (واسرشت‌سازی در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال پرایمر در دمای

می‌باشد که توسط ژن‌های متفاوت روی کروموزوم‌های مجزا کد می‌شوند. هر سه عضو این خانواده پروتئینی در پاسخ به استرس اکسیداتیو فعال شده و برای بقا سلول تحت استرس اکسیداتیو بسیار مهم هستند [۱۲]. سسترین‌ها به‌عنوان ترکیبات اکسیدو-ردوکناز عمل کرده و منجر به فعال شدن پراکسی‌ردوکسین شده و احتمالاً با مصرف رادیکال‌های آزاد اکسیژن در کاهش استرس اکسیداتیو درگیر هستند [۱۳]. سسترین‌ها دارای فعالیت‌های مستقل از پراکسی‌ردوکسین نیز می‌باشند که شامل القاء اتوفاژی با مهار TORC1 (Target of rapamycin complex 1) است. افزایش اتوفاژی منجر به کاهش کارآمد تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن توسط میتوکندری‌های آسیب دیده در سلول‌های تحت استرس می‌شود. فعال‌سازی AMPK (AMP-activated pro-tein kinase) توسط سسترین و مهار TORC1 با افزایش کارایی تنفس میتوکندریایی، تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن را کاهش می‌دهد. بنابراین، سسترین‌ها نقش کلیدی در حفظ پایداری سلولی و هموستازی در طول استرس اکسیداتیو دارند [۱۴]. سسترین ۲ (Sesn2) با نام اولیه Hi95 به‌عنوان ژنی که بیان آن در پاسخ به شرایط هیپوکسی القاء می‌گردد، برای اولین بار روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱ در موقعیت 1p35.3 نقشه‌برداری شد [۱۵]. پروتئین سسترین ۲ احتمالاً در توقف تولید مقادیر اضافی رادیکال‌های آزاد اکسیژن کلیوی و نیز حفظ فشار خون طبیعی و تعدیل گیرنده دوپامین D2 نقش دارد [۱۶]. پلی‌مورفیسم rs7526084 حاصل جانشینی نوکلئوتید گوانین (G) به سیتوزین (C) با فراوانی آلل مینور ۰/۳۲ در ناحیه ۳ پایین‌دست ژن سسترین ۲ قرار گرفته است. پلی‌مورفیسم‌های واقع در ناحیه ۳ پایین‌دست ژن نقش بالقوه‌ای در تنظیم بیان ژن اختصاصی-باقی و اختصاصی-زمانی دارند و احتمالاً تغییرات بیان ژن را با اثر روی پایداری رونوشت و کارایی ترجمه میانجی‌گری می‌کنند [۱۷]. با توجه به نقش سسترین‌ها، از جمله سسترین ۲، در کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در تمام اندام‌های بدن، به‌خصوص کلیه‌ها، در آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو، در این مطالعه برای اولین بار ارتباط بین پلی-مورفیسم rs7526084 ژن سسترین ۲ با بروز بیماری سنگ کلیه در بیماران ناحیه جنوب کشور مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

مشخصات عمومی افراد شرکت‌کننده در مطالعه در مطالعه مورد-شاهدی حاضر که در فاصله زمانی فروردین تا دی ۱۳۹۴ انجام گرفت، ۱۵۰ بیمار مبتلا به سنگ کلیه و ۱۸۰ فرد سالم که از نظر سن (±۵) و جنس همسان‌سازی شده

آورده شده است. فراوانی بیماری در مردان بیش از دو برابر فراوانی بیماری در زنان بود (نسبت مرد به زن: ۱۰۳ به ۴۷ نفر). ترکیب اصلی سنگ در اکثر بیماران، کلسیم اگزالات (۸۳/۵ درصد) و یا مخلوط کلسیم اگزالات و اسید اوریک (۱۰/۲ درصد) بود. سابقه خانوادگی سنگ کلیه در خویشاوندان درجه اول به- عنوان ریسک فاکتور قوی برای سنگ کلیه شناخته شد ($P < 0.001$), درحالی که مصرف سیگار ارتباط معنی داری با بروز بیماری نشان نداد ($P = 0.16$). فراوانی های ژنوتیپی و آللی پلی- مورفیسم rs7526084 ژن سستری ۲ مربوط به دو گروه کنترل و بیمار در جدول شماره ۳ آورده شده است. فراوانی ژنوتیپ های CC, CG و GG در افراد کنترل به ترتیب ۲۶/۷، ۵۸/۳ و ۱۵ درصد و در افراد بیمار به ترتیب ۴۲/۷، ۴۶ و ۱۱/۳ درصد به دست آمد. نتایج حاصل از بررسی توزیع ژنوتیپی نشان داد که جمعیت بیمار برای توزیع ژنوتیپ های پلی مورفیسم rs7526084 در تعادل هاردی-واینبرگ قرار دارد ($\chi^2: 0.076, df=1, P>0.05$). همان طور که فراوانی های ژنوتیپی نشان می دهند، ژنوتیپ هتروزیگوت CG ($P = 0.004$, OR: 0.49) و ژنوتیپ هموزیگوت GG ($P = 0.04$, CI: 0.23-0.96) ۹۵ درصد، در ۰/۴۷ (OR) با کاهش خطر ابتلا به سنگ کلیه همراه هستند. در آنالیز بعدی با در نظر گرفتن تأثیر ژنوتیپ های GG+CG در مقابل CC (توارث غالب به نفع آلل G) روی ریسک بروز بیماری، ارتباط معنی دار قابل ملاحظه ای بین این ژنوتیپ ها و کاهش خطر بروز بیماری سنگ کلیه به دست آمد ($P = 0.002$, CI: 0.31-0.78). فراوانی آلل پلی مورف G در جمعیت بیمار ۳۴ درصد و در جمعیت کنترل ۴۴ درصد برآورد گردید. حضور این آلل با کاهش خطر بروز بیماری همراه بود ($P = 0.01$, OR: 0.48-0.91, CI: 0.23-0.96).

۵۳ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه و تکثیر در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه) بود که با یک سیکل تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۷ دقیقه تکمیل گردید. خوانش ژنوتیپ ها براساس طول باندهای تکثیر شده روی ژل آگارز ۳ درصد و با استفاده از رنگ آمیزی با رنگ ایمن DNA safe stain (یکتاتجهیزآزما، ایران) انجام گرفت. تکثیر ناحیه ژنومی حاوی جایگاه پلی مورفیسم rs7526084 توسط پرایمرهای طراحی شده، تولید محصول کنترل داخلی به طول ۷۲۴ جفت باز نموده بود که صرف نظر از نوع ژنوتیپ در تمام نمونه ها دیده می شد. آلل G قطعه ۲۲۵ جفت بازی و آلل C قطعه ۵۴۰ جفت بازی را روی ژل نشان می دادند. حضور هم زمان محصولات ۲۲۵ و ۵۴۰ جفت بازی نشان دهنده ژنوتیپ هتروزیگوت CG می باشد (تصویر شماره ۱).

روش تجزیه و تحلیل آماری

آزمون مجذور کای برای مقایسه مقادیر ژنوتیپی مشاهده شده با مقادیر مورد انتظار در دو گروه بیمار و سالم به منظور بررسی تعادل هاردی-واینبرگ محاسبه گردید. از آزمون رگرسیون لوجستیک با محاسبه نسبت شانس (OR) و فاصله اطمینان ۹۵ درصد (95%CI) جهت بررسی ارتباط احتمالی بین جایگاه پلی- مورفیسم انتخاب شده و ریسک بروز سنگ کلیه استفاده شد. در این مطالعه ژنوتیپ CC به عنوان ژنوتیپ مرجع در نظر گرفته شد و ارتباط ژنوتیپ ها با ریسک بروز بیماری در دو حالت هم بارز و غالب برای آلل G مورد بررسی قرار گرفت. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۹ انجام گرفت. مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شدند.

نتایج

مشخصات عمومی جمعیت مورد مطالعه در جدول شماره ۲

جدول شماره ۱- پرایمرهای به کار رفته برای تکثیر ناحیه حاوی پلی مورفیسم rs7526084 در روش T-ARMS PCR

نام پرایمر	توالی پرایمر ۵' به ۳'	طول محصولات
FO (Forward Outer)	TCCATCCCACAGATAAGG	
FI (Forward Inner)	GGTTGTTGCGAAGAATGC	FO-RO: 724bp
RI (Reverse Inner)	CAAATGTTTTCAAATGTAATCTCC	FI-RO: 540bp (C allele)
RO (Reverse Outer)	CAGGCTACAGAAGTCTAAAATAG	FO-RI: 225bp (G allele)

بحث

مطالعه حاضر با هدف بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم rs7526084 در ژن سسترن ۲ با خطر بروز بیماری سنگ کلیه در بیماران ناحیه جنوب ایران انجام گرفت. نتایج آنالیز آماری نشان داد که در حضور آلل G و ژنوتیپ‌های حامل این آلل کاهش قابل توجهی در خطر بروز بیماری دیده می‌شود. در فرآیند پیچیده تشکیل سنگ کلیه، رسوب ترکیب کلسیم اگزالات در سلول‌های توبولار کلیه منجر به آسیب سلولی، بروز التهاب و در نهایت وقوع نکروز یا آپوپتوز در این سلول‌ها می‌شود. آسیب‌های اکسیداتیو نقش مهمی در پیشبرد این مسیر پیچیده دارند [۲۰،۱۹]. سسترن ۲ عضوی از خانواده پروتئین‌های آنتی‌اکسیدانت سسترن است که عملکردهای فیزیولوژیکی و سلولی متعددی دارد. ناک‌دادن کردن ژن سسترن ۲ با روش RNA تداخلی منجر به افزایش استرس اکسیداتیو و در مقابل القای بیان آن منجر به کاهش استرس اکسیداتیو می‌شود [۲۱،۱۳]. تغییرات اپی‌ژنتیک و تغییر سطح بیان ژن خانواده آنتی‌اکسیدانت سسترن در بیماری‌زایی اختلالات قلبی و تحلیل عصبی-عضلانی شایع هستند [۲۳،۲۲]. پراکسی‌ردوکسین-ها یک خانواده بزرگ از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت با ۶ عضو هستند که پراکسی‌ردوکسین ۳ (PRXIII) از این خانواده به‌وفور در میتوکندری سلول‌های توبولار کلیه یافت می‌شود [۲۴]. این گروه پروتئینی اثرات محافظتی زیادی در برخورد با ترکیبات اکسیداتیو در انواع مختلف سلول‌ها دارند [۲۵]. PRXII سلول‌های PC12 را در مقابل آپوپتوز و نوروپاتی قشری مغز را در مقابل سمیت β محافظت می‌کند [۲۷،۲۶]. PRXIII از نوروپاتی هیپوکامپ در مقابل سمیت سلولی حفاظت می‌کند [۲۸]؛ به‌طوری‌که افزایش بیان PRXII در شرایط برون‌تنی از نوروپاتی در برابر ایسکمی محافظت می‌نماید [۲۹]. We و همکاران نیز نشان داده‌اند که در آسیب‌های حاد کلیوی بیان PRXIII افزایش می‌یابد و با محافظت از سلول‌ها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو، در بهبود نکروز حاد توبولار نقش ایفا می‌کند [۳۰]. سسترن ۲ یک میانجی کاملاً شناخته شده در مسیر تنظیم پراکسی‌ردوکسین‌ها می‌باشد که کاهش بیان آن منجر به غیرفعال شدن و در نتیجه افزایش سطح رادیکال‌های آزاد اکسیژن و آسیب‌های سلولی و بافتی می‌گردد [۳۱]. ژن سسترن ۲ به‌شدت القایی است و بیان آن تحت تأثیر سیگنال‌های متعدد، تغییرات توالی و تغییرات اپی‌ژنتیک قرار می‌گیرد [۳۳،۳۲]. در شرایط بیماری سنگ کلیه احتمال می‌رود که جانشینی سیتوزین با گوانین در ناحیه ۳ پایین‌دست ژن روی تغییرات اپی‌ژنتیک سسترن ۲ مانند استیل‌اسیون هیستون اثر می‌گذارد. براساس نتایج مطالعه Soriano و همکاران، استیل‌اسیون هیستون در ناحیه پرو-

جدول شماره ۲- خصوصیات کلی جمعیت مورد مطالعه

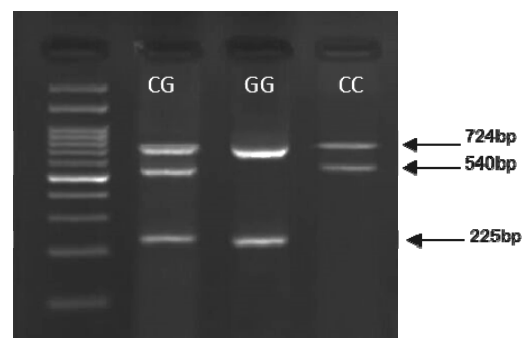
خصوصیات	کنترل	بیمار	P
تعداد	۱۸۰	۱۵۰	
میانگین سن (سال±SD)	۴۷/۰۲±۱۴/۳۲	۴۶/۵±۱۳/۹۵	۰/۷۸†
دامنه سنی (سال)	۲۰-۸۶	۲۳-۹۰	
شاخص توده بدنی (kg/m ²)	۲۶/۱۱±۳/۹۶	۲۵/۷۶±۳/۹۶	۰/۴۷
جنسیت			۰/۶۱*
زن	۶۵ (۳۶)	۴۷ (۳۱)	
مرد	۱۱۵ (۶۴)	۱۰۳ (۶۹)	
سابقه خانوادگی			<۰/۰۰۱
دارند	۴۹ (۲۷/۵)	۱۰۷ (۷۱/۳)	
ندارند	۱۲۹ (۷۲/۵)	۴۳ (۲۸/۷)	
مصرف سیگار			۰/۱۶
بلی	۴۵ (۲۵)	۴۸ (۳۲)	
خیر	۱۳۵ (۷۵)	۱۰۲ (۶۸)	
ترکیب سنگ			
کلسیم اگزالات (CaOx)	-	۹۵ (۸۳/۵)	
کلسیم فسفات (CaP)	-	۱ (۰/۳)	
اسید اوریک (UA)	-	۱۸ (۵/۴)	
سیستین (Cys)	-	۲ (۰/۶)	
مخلوط CaOx, UA	-	۳۴ (۱۰/۲)	

† آزمون t مستقل؛ * آزمون مجذور کای پیرسون؛ درصدها در پرانتز آورده شده است؛ SD: انحراف معیار

جدول شماره ۳- فراوانی آللی و ژنوتیپی مارکر rs7526084

پلی-مورفیسم	کنترل	بیمار	OR	95%CI	P*
CC	۴۸	۶۴	۱	reference	-
CG	۱۰۵	۶۹	۰/۴۹	۰/۳۰-۰/۸۰	۰/۰۰۴
GG	۲۷	۱۷	۰/۴۷	۰/۲۳-۰/۹۶	۰/۰۴
GG+CG	۱۳۲	۸۶	۰/۴۹	۰/۳۱-۰/۷۸	۰/۰۰۲
آلل C	۲۰۱	۱۹۷	۱	reference	-
آلل G	۱۵۹	۱۰۳	۰/۶۶	۰/۴۸-۰/۹۱	۰/۰۱

OR: نسبت شانس؛ CI: فاصله اطمینان؛ *آزمون رگرسیون لجستیک؛ مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار می‌باشد.



تصویر شماره ۱- تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسم rs7526084 با روش T-ARMS PCR. از سمت چپ به ترتیب مارکر اندازه ۱۰۰ جفت بازی، ژنوتیپ هتروزیگوت CG (باندهای ۷۲۴، ۵۴۰ و ۲۲۵ جفت بازی)، ژنوتیپ GG با محصولات ۲۲۵ و ۷۲۴ جفت بازی و ژنوتیپ CC با اندازه محصولات ۵۴۰ و ۷۲۴ جفت بازی مشاهده می‌شود.

مسیر بیماری‌زایی سنگ کلیه فراهم گردد.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر بیانگر ارتباط معنی‌دار بین پلی‌مورفیسم rs7526084 ژن سسترن ۲ و خطر بروز سنگ کلیه است که نشان می‌دهد تغییر توالی ژن سسترن ۲ احتمالاً دارای فواید درمانی در بیماری‌های مرتبط با آسیب اکسیداتیو مانند سنگ کلیه می‌باشد.

تشکر و قدردانی

نتایج این پژوهش برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد خانم الهام پرواسی با عنوان "ارزیابی نقش پلی‌مورفیسم‌های rs7526084 ژن Sesn2 و rs1458451 ژن Sesn3 در ایجاد استعداد ابتلا به بیماری سنگ کلیه" می‌باشد. نویسندگان مراتب قدررانی خود را نسبت به کارشناس آزمایشگاه ژنتیک مولکولی سرکار خانم نسیمه جعفری ابراز می‌دارند.

References:

- [1] Khan AS, Rai ME, Gandapur PA, Shah AH, Hussain AA, Siddiq M. Epidemiological risk factors and composition of urinary stones in Riyadh Saudi Arabia. *J Ayub Med Coll Abbottabad* 2004; 16(3): 56-8.
- [2] Pourmand Gh, Pourmand B. Epidemiology of stone disease in Iran. *Urolithiasis* 2012; 85-7.
- [3] Romero V, Akpınar H, Assimos DG. Kidney stones: a global picture of prevalence, incidence, and associated risk factors. *Rev Urol* 2010; 12(2-3): e86.
- [4] Stechman MJ, Loh NY, Thakker RV. Genetic causes of hypercalciuric nephrolithiasis. *Pediatr Nephrol* 2009; 24(12): 2321-32.
- [5] Safarinejad MR. Adult urolithiasis in a population-based study in Iran: prevalence, incidence, and associated risk factors. *Urol Res* 2007; 35(2): 73-82.
- [6] Ozbek E. Induction of oxidative stress in kidney. *Int J nephrol* 2012; 2012: 465897.
- [7] Tamadon MR, Nassaji M, Ghorbani R. Cigarette Smoking and Nephrolithiasis in Adult Individuals. *Nephrourol Mon* 2013; 5(1): 702-5.
- [8] Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 2000; 408(6809): 239-47.
- [9] Emerit J, Edeas M, Bricaire F. Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Biomed Pharmacother* 2004; 58(1): 39-4612.
- [10] Roberts CK, Sindhu KK. Oxidative stress and metabolic syndrome. *Life Sci* 2009; 84(21-22): 705-12.

موتر ژن سسترن ۲ نقش مهمی در القای وابسته به عمل (activity-dependent induction) این ژن دارد [۳۳]. براساس نتایج مطالعه حاضر، انتظار می‌رود در حضور آلل G میزان استیلایسون هیستونی در ناحیه پایین‌دست ژن افزایش یافته و با آزاد شدن ساختار کروماتین، دسترسی فاکتورهای درگیر در تنظیم بیان ژن افزایش می‌یابد [۳۴]. این افزایش به‌نوبه‌خود منجر به فعال شدن PRXIII و محافظت از بافت کلیه در برابر آسیب اکسیداتیو القا شده توسط کلسیم اغزالات می‌شود. اگرچه مطالعه حاضر به-عنوان اولین بررسی پیلوت در زمینه دخالت پلی‌مورفیسم ژن سسترن ۲ با بروز سنگ کلیه قدم مثبتی در زمینه ایجاد شاهد مولکولی مبنی بر دخالت مسیر استرس اکسیداتیو در پاتوژنز سنگ کلیه محسوب می‌گردد، اما پیشنهاد می‌گردد نتایج این مطالعه توسط محققان دیگر تأیید شده و در مطالعات آتی الگوی بیان ژن سسترن ۲ در حضور ژنوتیپ‌های مختلف جایگاه پلی‌مورفیسم rs7526084 و سایر مولکول‌های هدف پایین‌دستی آن بررسی گردد تا امکان توضیح مکانیسم دقیق دخالت ژن سسترن ۲ در

- [11] Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organ J* 2012; 5(1): 9-19.
- [12] Budanov AV, Shoshani T, Faerman A, Zelin E, Kamer I, Kalinski H, et al. Identification of a novel stress-responsive gene Hi95 involved in regulation of cell viability. *Oncogene* 2002; 21(39): 6017-6031.
- [13] Budanov AV, Sablina AA, Feinstein E, Koonin EV, Chumakov PM. Regeneration of peroxiredoxins by p53-regulated sestrins, homologs of bacterial AhpD. *Science* 2004; 304 (5670): 596-600.
- [14] Maiuri MC, Malik SA, Morselli E, Kepp O, Criollo A, Mouchel PL, et al. Stimulation of autophagy by the p53 target gene Sestrin2. *Cell Cycle* 2009; 8(10): 1571-6.
- [15] Peeters H, Debeer P, Bairoch A, Wilquet V, Huysmans C, Parthoens E, et al. PA26 is a candidate gene for heterotaxia in humans: Identification of a novel PA26-related gene family in human and mouse. *Hum Genet* 2003; 112(5-6): 573-80.
- [16] Yang Y, Cuevas S, Yang S, Villar VA, Escano C, Asico L, et al. Sestrin2 Decreases Renal Oxidative Stress, Lowers Blood Pressure, and Mediates Dopamine D2 Receptor-Induced Inhibition of Reactive Oxygen Species Production. *Hypertension* 2014; 64(4): 825-32.
- [17] Kuersten S, Goodwin EB. The power of the 3'UTR: translational control and development. *Nature* 2003; 4(8): 626-37.

- [18] Jahangirizade K, Nasiri M, Asmarian NS. Association of rs1042658 Polymorphism of the CSF3 Gene with the Susceptibility of Recurrent Pregnancy Loss in Women of Fars Province. *Arak Med Uni J* 2016; 19(106): 23-31.
- [19] Li CY, Deng YL, Sun BH. Taurine protected kidney from oxidative injury through mitochondrial-linked pathway in a rat model of nephrolithiasis. *Urol Res* 2009; 37(4): 211-20.
- [20] Khan SR. Crystal-induced inflammation of the kidneys: results from human studies, animal models, and tissue-culture studies. *Clin Exp Nephrol* 2004; 8(2): 75-88.
- [21] Essler S, Dehne N, Brüne B. Role of sestrin2 in peroxide signaling in macrophages. *FEBS Lett* 2009; 583(21): 3531-5.
- [22] Rule AD, Bergstralh EJ, Melton LJ 3rd, Li X, Weaver AL, Lieske JC. Kidney stones and the risk for chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4(4): 804-11.
- [23] Zhou D, Zhan C, Zhong Q, Li S. Upregulation of sestrin-2 expression via P53 protects against 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP+) neurotoxicity. *J Mol Neurosci* 2013; 51(3): 967-75.
- [24] Oberley TD, Verwiebe E, Zhong W, Kang SW, Rhee SG. Localization of the thioredoxin system in normal rat kidney. *Free Radic Biol Med* 2001; 30(4): 412-24.
- [25] Simzar S, Ellyin R, Shau H, Sarafian TA. Contrasting antioxidant and cytotoxic effects of peroxiredoxin I and II in PC12 and NIH3T3 cells. *Neurochem Res* 2000; 25(12): 1613-21.
- [26] Ichimiya S, Davis JG, O'Rourke DM, Katsumata M, Greene MI. Urine thioredoxin peroxidase delays neuronal apoptosis and is expressed in areas of the brain most susceptible to hypoxic and ischemic injury. *DNA Cell Biol* 1997; 16(3): 311-21.
- [27] Yao J, Taylor M, Davey F, Ren Y, Aiton J, Coote P, et al. Interaction of amyloid binding alcohol dehydrogenase/Abeta mediates up-regulation of peroxiredoxin II in the brains of Alzheimer's disease patients and a transgenic Alzheimer's disease mouse model. *Mol Cell Neurosci* 2007; 35(2): 377-82.
- [27] Hattori F, Murayama N, Noshita T, Oikawa S. Mitochondrial peroxiredoxin-3 protects hippocampal neurons from excitotoxic injury in vivo. *J Neurochem* 2003; 86(4): 860-8.
- [29] Boulos S, Meloni BP, Arthur PG, Bojarski C, Knuckey NW. Peroxiredoxin 2 overexpression protects cortical neuronal cultures from ischemic and oxidative injury but not glutamate excitotoxicity, whereas Cu/Zn superoxide dismutase 1 overexpression protects only against oxidative injury. *J Neurosci Res* 2007; 85(14): 3089-97.
- [30] Wu CL, Su TC, Chang CC, Kor CT, Chang CH, Yang TH, et al. Tubular Peroxiredoxin 3 as a Predictor of Renal Recovery from Acute Tubular Necrosis in Patients with Chronic Kidney Disease. *Sci Rep* 2017; 7: 43589.
- [31] Rhee SG, Kang SW, Chang TS, Jeong W, Kim K. Peroxiredoxin, a novel family of peroxidases. *IUBMB Life* 2001; 52(1-2): 35-41.
- [32] Papadia S, Soriano FX, Leveille F, Martel MA, Dakin KA, Hansen HH, et al. Synaptic NMDA receptor activity boosts intrinsic antioxidant defenses. *Nat Neurosci* 2008; 11(4): 476-87.
- [33] Soriano FX, Papadia S, Bell KF, Hardingham GE. Role of histone acetylation in the activity-dependent regulation of sulfiredoxin and sestrin 2. *Epigenetics* 2009; 4(3): 152-8.
- [34] Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Cell* 2007; 128(4): 693-705.