

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

Parvasi E<sup>1</sup>, Nasiri M<sup>1\*</sup>, Irani D<sup>2</sup>

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 پلیمورفیسم rs7526084 در ناحیهٔ ۳ پایین دست ژن سسترین ۲ به عنوان یک مارکر گویا در مطالعه مولکولی بیماری سنگ کلیه

۱ \*۱ ۲ الہام پرواسی ، محبوبہ نصیری ، داریوش ایرانی

## خلاصه:

**سابقه و هدف:** بیماری سنگ کلیه یکی از شایع‌ترین اختلالات مجاری ادراری است که با هتروژنیتی بالی و ژنتیکی بالا در جمعیت بروز می‌نماید. سسترین ۲ در مسیرهای حیاتی گسترده‌ای، به خصوص استرس اکسیداتیو و ژنو-توکسیک، در گیر می‌باشد. با توجه به اهمیت تنظیم نامناسب مسیر استرس اکسیداتیو در بیماری‌های سیستمیک مانند ناهنجاری‌های کلیوی، این مطالعه با هدف بررسی ارتباط پلی-مور فیسم 7526084 در ناحیه ۳ پایین دست ژن سسترین ۲ و ریسک بروز سنگ کلیه در بیماران جنوب ایران انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه مورد شاهدی، ۱۵۰ فرد مبتلا به سنگ کلیه و ۱۸۰ فرد سالم که از نظر سن و جنس همسان‌سازی شده بودند، در فاصله زمانی فور پس از تزریق ۱۳۹۴ شرکت داده شدند. تعیین ژنوتیپ پلی‌مورفیسم (polymorphism) با استفاده از روش 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). درصد ۹۱ CI: ۰/۴۸-۰/۹۱ (OR: ۰/۶۶). همچنین، در حضور ژنوتیپ‌های هتروزویگوت CG ۹۵ CI: ۰/۳۰-۰/۸۰ (P=0.04) درصد ۹۵ (OR: ۰/۶۶) درصد. (OR: ۰/۰۴). همچنان، در حضور ژنوتیپ‌های کاهش خطر بروز سنگ کلیه دیده شد. تحت درصد ۴۹ (OR: ۰/۰۴) و هموژیگوت GG ۹۶ CI: ۰/۲۳-۰/۹۶ (P=0.04) درصد. (OR: ۰/۰۷) (OR: ۰/۰۴) کاهش خطر بروز سنگ کلیه دیده شد. تحت درصد ۴۹ (OR: ۰/۰۴) مدل ژنتیک غالب برای آلل G در مقابل CC، این آلل خطر بروز بیماری را به طور قابل توجهی کاهش داد (P=0.02).

**نتیجه‌گیری:** کاهش خطر بروز سنگ کلیه در حضور آلری G از پلی‌مورفیسم ژن سسترین ۲ احتمالاً مدرکی دال بر دخالت مسیر استرس اکسیداتوی در یاتورزن سنگ کلیه می‌باشد.

**واژگان کلیدی:** بیماری سنگ کلیه، استرس اکسیداتیو، سسترنین ۲، پلیمورفیسم

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

مقدمة

پس از عفونت‌های ادراری و بیماری‌های پروستات، سنگ کلیه سومین بیماری شایع دستگاه ادراری محسوب می‌شود [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 می‌کند [۲]. مطالعات خانوادگی نشان داده است که خویشاوندان بیماران مبتلا به سنگ کلیه نسبت به افراد جمعیت عمومی استعداد بیشتری برای بروز سنگ کلیه دارند [۳]. وجود تجمع خانوادگی برای این بیماری انعکاسی از دخالت عوامل ژنتیکی و محیطی متعدد در پروز بیماری می‌باشد [۴].

<sup>1</sup> گروه زیست‌شناسی، واحد ارسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، ارسنجان

<sup>۲</sup> بخش حراحی، سمارستان شهید فقیه، دانشگاه علوم پزشکی، شیراز، شیراز

\* 1650-1651-1652

لار تان خانه لار داشتند و آنها را لار داشتند و آنها را می‌دانستند.

اسیان فارس، ارسنجان، بلوار دانشگاه، دانشگاه  
MMW121-NW/1-2

زیست‌شناسی، کدپستی: ۱

تلفن: ٠٦٠١٣٧٩١

nasiri@iaua.ac.ir

بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. میانگین سن افراد بیمار  $46/5 \pm 13/9$  سال با دامنه سنی  $23-90$  سال و میانگین سن افراد سالم  $47/0 \pm 14/32$  سال با دامنه سنی  $20-86$  سال بود. تمام بیماران از بخش جراحی بیمارستان شهید فقیهی شیراز از بین افرادی که تحت درمان با روشن پرکوتانتوس نفوولیتوومی (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 آنtrapo-متیریک (عنسنجه‌ی)، سن، وجود سابقه خانوادگی برای بیماری سنگ کلیه و استعمال دخانیات به صورت مصاحبه حضوری از تک‌تک افراد شرکت‌کننده در پژوهش پرسیده شد و اطلاعات مربوط به ترکیب تشکیل دهنده سنگ نیز با بررسی پرونده بیمار استخراج گردید و در پرسشنامه استانداردی که تهیه گردیده بود ثبت شد. پس از تکمیل فرم رضایت‌نامه شرکت آگاهانه در تحقیق زیر نظر کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شیراز،  $5$  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  $-20$  درجه نگهداری شدند.

#### روش استخراج DNA و تعیین ژنوتیپ

در این مطالعه DNA ژنومی با استفاده از کیت استخراج YT9040 (یکتاچهیزآزم، ایران) استخراج گردید. تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها برای جایگاه مارکر پلی‌مورفیسم rs7526084 در ژن سسترن ۲ با روش PCR-T-ARMS (Tetra-primer amplicon 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 تکیه آل‌های 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 پرایمرهای خارجی (FO, RO)،  $۱$  میکرولیتر از جفت پرایمرهای داخلی (FI, RI) و  $۶/۲۵$  میکرولیتر Master mix (یکتاچهیزآزم، ایران) تهیه شد. شرایط دمایی دستگاه ترموسایکلر (Applied Biosystem, USA) شامل واسرشت‌سازی اولیه در دمای  $95$  درجه سانتی‌گراد به مدت  $۳$  دقیقه،  $۳۵$  چرخه (واسرشت‌سازی در دمای  $95$  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 بقاء سلول تحت استرس اکسیداتیو بسیار مهم هستند [۱۲]. سسترن‌ها به عنوان ترکیبات اکسیدو-ردوکتاز عمل کرده و منجر به فعال شدن پرایکسی‌ردوکسین شده و احتمالاً با مصرف رادیکال‌های آزاد اکسیژن در کاهش استرس اکسیداتیو درگیر هستند [۱۳]. سسترن‌ها دارای فعالیت‌های مستقل از پرایکسی‌ردوکسین نیز می‌باشند که شامل القاء اتوفاژی با مهار (Target of rapamycin complex 1) TORC1 افزایش اتوفاژی منجر به کاهش کارامد تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن توسط میتوکندری‌های آسیب دیده در سلول‌های تحت استرس می‌شود. فعال‌سازی AMPK-activated pro-AMPK با افزایش کارایی (tein kinase) توسط سسترن و مهار TORC1 با افزایش کارایی تنفس میتوکندری‌ای، تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن را کاهش می‌دهد. بنابراین، سسترن‌ها نقش کلیدی در حفظ پایداری سلولی و هموستازی در طول استرس اکسیداتیو دارند [۱۴]. سسترن  $2$  (Sesn2) (با نام اولیه Hi95) به عنوان ژنی که بیان آن در پاسخ به شرایط هیپوکسی القاء می‌گردد، برای اولین بار روی بازوی کوتاه کروموزوم  $1$  در موقعیت  $1p35.3$  نقشه‌برداری شد [۱۵]. پروتئین سسترن  $2$  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  $۳$  پایین دست ژن سسترن  $2$  قرار گرفته است. پلی‌مورفیسم‌های واقع در ناحیه  $۳$  پایین دست ژن نقش بالقوه‌ای در تنظیم بیان ژن اختصاصی-بافتی 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 سسترن‌ها، از جمله سسترن  $2$ ، 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 پلی‌مورفیسم rs7526084 ژن سسترن  $2$  با بروز بیماری سنگ کلیه در بیماران ناحیه جنوب کشور مورد بررسی قرار گرفته است.

#### مواد و روش‌ها

مشخصات عمومی افراد شرکت کننده 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 ( $\pm ۵$ ) 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 سنتگ در اکثر بیماران، کلسیم اگرالات (۸۳/۵ درصد) و یا مخلوط کلسیم اگرالات و اسید اوریک (۱۰/۲ درصد) بود. سابقه خانوادگی سنتگ کلیه در خویشاوندان درجه اول به عنوان ریسک فاکتور قوی برای سنتگ کلیه شناخته شد ( $P < 0.001$ ). درحالی که مصرف سیگار ارتباط معنی‌داری با بروز بیماری نشان نداد ( $P = 0.16$ ). فراوانی‌های ژنوتیپی و آللی پلی-مورفیسم rs7526084 ژن سسترین ۲ مربوط به دو گروه کنترل و بیمار در جدول شماره ۳ آورده شده است. فراوانی ژنوتیپ‌های CC, CG و GG در افراد کنترل به ترتیب  $26/7$ ,  $58/3$  و  $15$  درصد و در افراد بیمار به ترتیب  $42/7$ ,  $46$  و  $11/3$  درصد به دست آمد. نتایج حاصل از بررسی توزیع ژنوتیپی نشان داد که جمعیت بیمار برای توزیع ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم rs7526084 در تعادل هاردی-واینبرگ قرار دارد ( $P > 0.05$ ,  $df = 1$ ,  $\chi^2 = 0.76$ ). همان‌طور که فراوانی‌های ژنوتیپی نشان می‌دهند، ژنوتیپ هتروزیگوت CG ( $P = 0.004$ ,  $CI: 0.30 - 0.80$ ) درصد، ۹۵ (OR:  $0.49$ ) و ژنوتیپ هموزیگوت GG ( $P = 0.04$ ,  $CI: 0.23 - 0.96$ ) درصد، ۹۵ درصد (OR:  $0.47$ ) با کاهش خطر ابتلا به سنتگ کلیه همراه هستند. در آتالیز بعدی با در نظر گرفتن تأثیر ژنوتیپ‌های GG+CG در مقابل CC (توارث غالب به نفع آلل G) روی ریسک بروز بیماری، ارتباط معنی‌دار قابل ملاحظه‌ای بین این ژنوتیپ‌ها و کاهش خطر بروز بیماری سنتگ کلیه به دست آمد ( $P = 0.002$ ,  $CI: 0.31 - 0.78$ ). فراوانی آلل پلی‌مورف G در جمعیت بیمار ۹۵ درصد، (OR:  $0.49$ ) و فراوانی آلل پلی‌مورف 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:  $0.66$ ,  $CI: 0.48 - 0.91$ ).

۵۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه و تکثیر در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه) بود که با یک سیکل تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه تکمیل گردید. خوانش ژنوتیپ‌ها براساس طول باندهای تکثیر شده روی ژل آگارز ۳ DNA safe stain (یکاتجهزی‌آزمایش، ایران) انجام گرفت. تکثیر ناحیه ژنومی حاوی جایگاه پلی‌مورفیسم rs7526084 توسط پرایمرهای طراحی شده، تولید محصول کنترل داخلی به طول ۷۲۴ جفت باز نموده بود که صرف نظر از نوع ژنوتیپ در تمام نمونه‌ها دیده می‌شد. آلل G قطعه ۲۲۵ جفت بازی و آلل C قطعه ۵۴۰ جفت بازی را روی ژل نشان می‌دادند. حضور هم‌زمان محصولات ۲۲۵ و ۵۴۰ جفت بازی نشان‌دهنده ژنوتیپ هتروزیگوت CG می‌باشد (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 به‌منظور بررسی تعادل هاردی-واینبرگ محاسبه گردید. از آزمون رگرسیون لوچیستیک 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 سنتگ کلیه استفاده شد. در این مطالعه ژنوتیپ CC به عنوان ژنوتیپ مرجع در نظر گرفته شد و ارتباط ژنوتیپ‌ها با ریسک بروز بیماری در دو حالت هم‌بارز و غالب برای آلل G مورد بررسی قرار گرفت. آتالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۹ انجام گرفت. مقادیر P کمتر از  $0.05$  از نظر آماری معنی‌دار 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 پلی‌مورفیسم rs7526084 در روش T-ARMS PCR

نام پرایمر	توالی پرایمر <sup>۵</sup> به ۳	طول محصولات
FO (Forward Outer)	TCCATCCCACAGATAAGG	
FI (Forward Inner)	GGTTGTTGCGAAGAATGC	FO-RO: 724bp FI-RO: 540bp (C allele) FO-RI: 225bp (G allele)
RI (Reverse Inner)	CAAATGTTTCAAATGTAATCTCC	
RO (Reverse Outer)	CAGGCTACAGAACGTCTAAATAG	

## بحث

مطالعه حاضر با هدف بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم rs7526084 در ژن سسترین ۲ با خطر بروز بیماری سنگ کلیه در بیماران ناحیه جنوب ایران انجام گرفت. نتایج آنالیز آماری نشان داد که در حضور آلر G و ژنوتیپ‌های حامل این آل 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 قوع نکروز یا آپوپتوز در این سلول‌ها می‌شود. آسیب‌های اکسیداتیو نقش مهمی در پیشبرد این مسیر پیچیده دارند [۱۹، ۲۰]. سسترین ۲ عضوی از خانواده پروتئین‌های آنتی‌اکسیدانت سسترین است که عملکردهای فیزیولوژیکی و سلولی متعددی دارد. ناکدان کردن ژن سسترین ۲ با روش RNA تداخلی منجر به افزایش استرس اکسیداتیو و در مقابل القای بیان آن منجر به کاهش استرس اکسیداتیو می‌شود [۱۳، ۲۱]. تغییرات اپیژنیک و تغییر سطح بیان ژن خانواده آنتی‌اکسیدانت سسترین در بیماری زایی اختلالات قلبی و تحلیل عصبی-عضلانی شایع هستند [۲۲، ۲۳]. 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 PC12 در انواع مختلف سلول‌ها دارند [۲۵]. PRXII سلول‌های PRXIII از نوروون‌های هیپوکامپ A $\beta$  محافظت می‌کند [۲۶، ۲۷]. در مقابل سمتی سلولی حفاظت می‌کند [۲۸]؛ به طوری که افزایش PRXII در شرایط برون‌تنی از نوروون‌ها 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]. سسترین ۲ یک میانجی کاملاً شناخته شده در مسیر تنظیم پراکسی‌ردوکسین‌ها می‌باشد که کاهش بیان آن منجر به غیرفعال شدن و درنتیجه افزایش سطح رادیکال‌های آزاد اکسیژن و آسیب‌های سلولی و بافتی می‌گردد [۳۱]. ژن سسترین ۲ به شدت القایی است و بیان آن تحت تأثیر سیگنال‌های متعدد، تغییرات توالی و تغییرات اپیژنیک قرار می‌گیرد [۳۲، ۳۳]. در شرایط بیماری سنگ کلیه احتمال می‌رود که جانشینی سیتوزین با گوانین در ناحیه ۳ پایین دست ژن روی تغییرات اپیژنیک سسترین 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

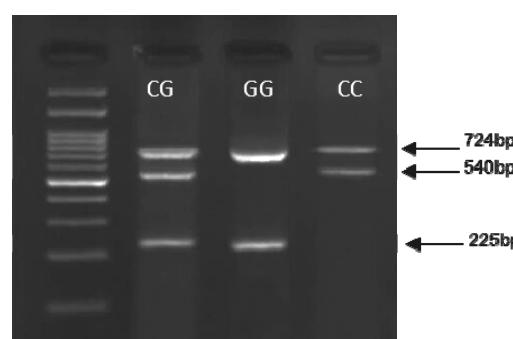
P	بیمار	کنترل	خصوصیات
	۱۵۰	۱۸۰	تعداد
۰/۷۸۷†	۴۶,۵±۱۳,۹۵	۴۷,۰۲±۱۴,۳۲	میانگین سن (سال ± SD)
	۲۳-۹۰	۲۰-۸۶	دامنه سنی (سال)
۰/۴۷	۲۵,۷۶±۳,۹۶	۲۶,۱۱±۳,۹۶	شاخص نوده بدنی (kg/m <sup>2</sup> )
۰/۹۱*	۴۷ (۳۱)	۶۵ (۳۶)	جنسیت
	۱۰۳ (۶۹)	۱۱۵ (۶۴)	زن
			مرد
<۰/۰۰۱	۱۰۷ (۷۱/۳)	۴۹ (۲۷/۵)	سابقه خانوادگی
	۴۳ (۲۸/۷)	۱۲۹ (۷۲/۵)	دارند
۰/۱۶	۴۸ (۳۲)	۴۵ (۲۵)	ندارند
	۱۰۲ (۶۸)	۱۳۵ (۷۵)	صرف سیگار
			بلی
			خیر
			ترکیب سنگ
	۹۵ (۸۳/۰)	-	کلسیم اگزالات (CaOx)
	۱ (۰/۳)	-	کلسیم فسفات (CaP)
	۱۸ (۵/۴)	-	اسید اوریک (UA)
	۲ (۰/۶)	-	سیستین (Cys)
	۳۴ (۱۰/۲)	-	مخلوط CaOx, UA

\* آزمون t مستقل؛ † آزمون مجدد کای پیرسون؛ درصدها در پرانتز آورده شده  
است؛ SD: انحراف میانگی

جدول شماره ۳- فراوانی آلری و ژنوتیپی مارکر rs7526084

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

P: نسبت شناس؛ CI: فاصله اطمینان؛ آزمون رگرسیون لوجیستیک؛ مقدار OR کمتر از ۰/۰۵ معنی دار می‌باشد.



تصویر شماره ۱- تعیین ژنوتیپ پلی‌مورفیسم rs7526084 با روش T-ARMS PCR. از سمت چپ به ترتیب مارکر اندازه ۱۰۰ جفت بازی، ژنوتیپ هتروزیگوت CG (باندهای ۷۲۴، ۵۴۰ و ۲۲۵) و 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 بیماری زایی سنتگ کلیه فراهم گردد.

#### نتیجه‌گیری

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

#### تشکر و قدردانی

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

موتر ژن سسترین ۲ نقش مهمی در القای وابسته به عمل (activity-dependent induction) این ژن دارد [۳۳]. براساس نتایج مطالعه حاضر، انتظار می‌رود در حضور آل G میزان استیلیاسیون هیستونی در ناحیه پایین دست ژن افزایش یافته و با آزاد شدن ساختار کروماتین، دسترسی فاکتورهای درگیر در تنظیم بیان ژن افزایش می‌یابد [۳۴]. این افزایش بمنوبه خود منجر به شدن PRXIII و محافظت از بافت کلیه در برابر آسیب اکسیداتیو القا شده توسط کلسیم اگزالات می‌شود. اگرچه مطالعه حاضر به عنوان اولین بررسی پایلوت در زمینه دخالت پلیمورفیسم ژن سسترین ۲ با بروز سنتگ کلیه قدم مشتبی در زمینه ایجاد شاهد مولکولی مبنی بر دخالت مسیر اکسیداتیو در پاتوتیز سنتگ کلیه محسوب می‌گردد، اما پیشنهاد می‌گردد نتایج این مطالعه توسط محققان دیگر تأیید شده و در مطالعات آتی الگوی بیان ژن سسترین ۲ در حضور ژنوتیپ‌های مختلف جایگاه پلیمورفیسم rs7526084 و سایر مولکول‌های هدف پایین دستی آن بررسی گردد تا امکان توضیح مکانیسم دقیق دخالت ژن سسترین ۲ در

#### 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, Akpinar 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 Nephrolitiasis 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.
- [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, Asmari 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, Bergstrahl 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<sup>+</sup>) 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.