*Original Article*

# 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[1], Nasiri M[1*], Irani D[2]**

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.

[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-03 ]

# بررسی پلی‌مورفیسم rs7526084 در ناحیه ´۳ پایین‌دست ژن سسترین ۲ به‌عنوان 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 شایع‌ترین اختلالات مجاری ادراری است که با هتروژنیتی بالینی و ژنتیکی بالا در جمعیت بروز می‌نماید. سسترین ۲ در مسیرهای حیاتی گسترده‌ای، به‌خصوص استرس اکسیداتیو و ژنوتوکسیک، درگیر می‌باشد. باتوجه به اهمیت تنظیم نامناسب مسیر استرس اکسیداتیو در بیماری‌های سیستمیک مانند ناهنجاری‌های کلیوی، این مطالعه با هدف بررسی ارتباط پلی-مورفیسم rs7526084 در ناحیه ´۳ پایین‌دست 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 فروردین تا دی‌ماه ۱۳۹۴ شرکت داده شدند. تعیین ژنوتیپ پلی‌مورفیسم 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 درحضور این آلل ریسک بروز بیماری کاهش نشان داد (OR:۰/۶۶ ،۹۵ CI:۰/۴۸-۰/۹۱ درصد، P=۰/۰۱). همچنین، در حضور ژنوتیپ‌های هتروزیگوت CG (OR:۰/۴۹ ،۹۵ CI:۰/۳۰-۰/۸۰ درصد، P=۰/۰۰۴) و هموزیگوت GG (OR:۰/۴۷ ،۹۵ CI:۰/۲۳-۰/۹۶ درصد، P=۰/۰۴) 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 به‌طور قابل توجهی کاهش داد (OR:۰/۴۹ ،۹۵ CI:۰/۳۱-۰/۷۸ درصد، P=۰/۰۰۲).

**نتیجه‌گیری:** کاهش خطر بروز سنگ کلیه در حضور آلل G از پلی‌مورفیسم ژن سسترین ۲ احتمالا مدرکی دال بر دخالت مسیر استرس اکسیداتیو در پاتوژنز سنگ کلیه می‌باشد.

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

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

**مقدمه**

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 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 می‌باشد [۴].

سن، جنسیت، جغرافیا، شرایط آب‌وهوایی، فعالیت بدنی، استعمال سیگار و رژیم غذایی از مهم‌ترین عوامل محیطی در بروز بیماری سنگ کلیه شناخته شده‌اند [۵]. دفع سموم مانند فلزات سنگین از جمله جیوه و سرب، اشعه‌ها و عوامل عفونی، آنتی‌بیوتیک‌ها، ترکیبات موجود در سیگار و ترکیبات شیمی‌درمانی منجر به القای استرس اکسیداتیو در کلیه‌ها می‌شوند و این اندام را به آسیب اکسیداتیو بسیار حساس می‌کنند [۶،۷]. مسیر استرس اکسیداتیو حاصل برهم‌خوردن توازن بین تولید پراکسیدانت و آنتی‌اکسیدانت-ها می‌باشد که علاوه بر مداخله با جریان طبیعی اطلاعات ژنتیکی از طریق اکسید کردن DNA و RNA، به ماکرومولکول‌های دیگر مانند پروتئین و لیپید نیز آسیب می‌رساند [۸]. تجمع آسیب اکسیداتیو ماکرومولکولی منجر به پیری سلول، پیری بافت و کاهش طول عمر مانند تحلیل عصبی [۹] و بیماری‌های متابولیک که از جمله بیماری‌های مرتبط با سن هستند، می‌شود [۱۰]. حضور یک سیستم آنتی‌اکسیدانت دفاعی آنزیمی و یا غیرآنزیمی در بیشتر سلول‌ها، موجودات را در برابر آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو محافظت می‌نماید [۱۱]. سسترین یک خانواده ژنی منحصر به‌فرد شامل سه عضو سسترین ۱، سسترین ۲ و سسترین ۳

[۱] گروه زیست‌شناسی، 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 زیست‌شناسی، کدپستی: ۷۳۷۶۱۵۳/۱۶۱

**تلفن:** ۰۹۱۷۳۰۱۰۶۰۱ **دورنویس:** ۰۷۱ ۴۳۵۲۲۴۸۳

**پست الکترونیک:** nasiri@iaua.ac.ir

**تاریخ دریافت:** ۹۵/۱۲/۲۵ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۶/۴/۱۳



[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-03 ]

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]. سسترین‌ها به‌عنوان ترکیبات اکسیدو-ردوکتاز عمل کرده و منجر به فعال شدن پراکسی‌ردوکسین شده و احتمالا 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 کارامد 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 احتمالا 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-بافتی و اختصاصی-زمانی دارند و احتمالا 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 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 (±۵) و جنس همسان‌سازی شده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. میانگین سن افراد بیمار ۱۳/۹±۴۶/۵ سال با دامنه سنی ۹۰-۲۳ سال و میانگین سن افراد سالم ۱۴/۳۲±۴۷/۰۲ سال با دامنه سنی ۸۶-۲۰ سال بود. تمام بیماران از بخش جراحی بیمارستان شهید فقیهی شیراز از بین افرادی‌که تحت درمان با روش پرکوتانئوس 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 آنتروپو-متریک (تن‌سنجی)، سن، وجود سابقه خانوادگی برای بیماری سنگ کلیه و استعمال دخانیات به‌صورت 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، ۵ سی‌سی نمونه خون محیطی از کلیه افراد بیمار و سالم گرفته شد و نمونه-های 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، یکتاتجهیزآزما، ایران) استخراج گردید. تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها برای جایگاه مارکر پلی‌مورفیسم rs7526084 در ژن سسترین ۲ با روش T-ARMS PCR (Tetra-primer amp-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 مقطراستریل، ۰/۷۵ میکرولیتر از جفت پرایمرهای خارجی (FO, RO)، ۱ میکرولیتر از جفت پرایمرهای داخلی (FI, RI) و ۶/۲۵ میکرولیتر Master mix (یکتاتجهیزآزما، ایران) تهیه شد. شرایط دمایی دستگاه ترموسایکلر (Applied Biosystem, USA) شامل واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳ دقیقه، ۳۵ چرخه (واسرشت‌سازی در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۵ ثانیه، اتصال پرایمر در دمای



[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-03 ]

۵۳ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۵ ثانیه و تکثیر در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۵ ثانیه) بود که با یک سیکل تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷ دقیقه تکمیل گردید. خوانش ژنوتیپ‌ها براساس طول باندهای تکثیر شده روی ژل آگارز ۳ درصد و با استفاده از رنگ‌آمیزی با رنگ ایمن DNA safe stain (یکتاتجهیزآزما، 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 صرف‌نظر 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 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 به‌عنوان ژنوتیپ مرجع درنظر گرفته شد و ارتباط ژنوتیپ‌ها با ریسک بروز بیماری در دو حالت هم‌بارز و غالب برای آلل G مورد بررسی قرار گرفت. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۹ انجام گرفت. مقادیر $P$ کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شدند.

## نتایج

مشخصات عمومی جمعیت مورد مطالعه در جدول شماره ۲ 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 به‌عنوان ریسک فاکتور قوی برای سنگ کلیه شناخته شد ($P$<۰/۰۰۱)، درحالی‌که مصرف سیگار ارتباط معنی‌داری با بروز بیماری نشان نداد ($P$=۰/۱۶). 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 به‌ترتیب ۲۶/۷، ۵۸/۳ و ۱۵ درصد و در افراد بیمار به‌ترتیب ۴۲/۷، ۴۶ و ۱۱/۳ درصد به‌دست آمد. نتایج حاصل از بررسی توزیع ژنوتیپی نشان داد که جمعیت بیمار برای توزیع ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم rs7526084 در تعادل هاردی-واینبرگ قرار دارد ($\chi^2$:۰/۰۷۶، df=۱،$P$>۰/۰۵). همان‌طور که فراوانی‌های ژنوتیپی نشان می‌دهند، ژنوتیپ هتروزیگوت CG ($P$=۰/۰۰۴، CI:۰/۳۰-۰/۸۰ ۹۵ درصد، OR:۰/۴۹) و ژنوتیپ هموزیگوت GG ($P$=۰/۰۴، CI:۰/۲۳-۰/۹۶ ۹۵ درصد، OR:۰/۴۷) با کاهش خطر ابتلا به سنگ کلیه همراه هستند. در آنالیز 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 سنگ کلیه به‌دست آمد ($P$=۰/۰۰۲، CI:۰/۳۱-۰/۷۸ ۹۵ درصد، OR:۰/۴۹). 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 ($P$=۰/۰۱، CI:۰/۴۸-۰/۹۱ ۹۵ درصد، OR:۰/۶۶).

جدول شماره ۱- پرایمرهای به‌کار رفته برای تکثیر ناحیه حاوی پلی‌مورفیسم rs7526084 در روش T-ARMS PCR

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

[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-03 ]

جدول شماره ۲- خصوصیات کلی جمعیت مورد مطالعه

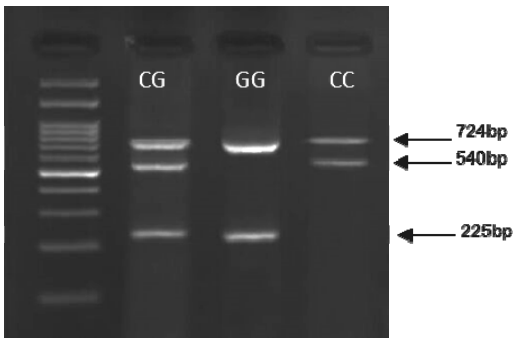
| خصوصیات | کنترل | بیمار | P |
|---|---|---|---|
| تعداد | ۱۸۰ | ۱۵۰ | |
| میانگین سن (سال± SD) | ۴۷/۰۲ ±۱۴/۳۲ | ۴۶٫۵±۱۳٫۹۵ | ۰/۷۸† |
| دامنه سنی (سال) | ۲۰-۸۶ | ۲۳-۹۰ | |
| شاخص توده بدنی ($kg/m^2$) | ۲۶/۱۱±۳/۹۶ | ۲۵/۷۶±۳/۹۶ | ۰/۴۷ |
| جنسیت | | | ۰/۶۱* |
| زن | ۶۵ (۳۶) | ۴۷ (۳۱) | |
| مرد | ۱۱۵ (۶۴) | 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 | | | |
| کلیسم 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 لوجستیک؛ مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار 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 جفت بازی)، ژنوتیپ GG با محصولات ۲۲۵ و ۷۲۴ جفت بازی و ژنوتیپ CC با اندازه محصولات ۵۴۰ و ۷۲۴ جفت بازی مشاهده می‌شود.

## 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 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]. 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 [۲۱،۱۳]. تغییرات اپی‌ژنتیک و تغییر سطح بیان ژن خانواده آنتی‌اکسیدانت سسترین 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 نورون‌های قشری مغز را در مقابل سمیت Aβ محافظت می‌کند [۲۷،۲۶]. PRXIII از نورون‌های هیپوکامپ در مقابل سمیت سلولی حفاظت می‌کند [۲۸]؛ به‌طوری‌که افزایش بیان PRXII در شرایط برون‌تنی از نورون‌ها 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 کاملا شناخته شده در مسیر تنظیم پراکسی‌ردوکسین‌ها می‌باشد که کاهش بیان آن منجر به غیرفعال شدن و درنتیجه افزایش سطح رادیکال-های آزاد اکسیژن و آسیب‌های سلولی و بافتی می‌گردد [۳۱]. ژن سسترین 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 سسترین ۲ مانند استیلاسیون هیستون اثر می‌گذارد. براساس نتایج مطالعه Soriano و همکاران، استیلاسیون هیستون در ناحیه پرو-

[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-03 ]

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 آلل G میزان استیلاسیون 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 اگزالات می‌شود. اگرچه مطالعه حاضر به‌عنوان اولین بررسی پایلوت در زمینه دخالت پلی‌مورفیسم ژن سسترین 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 سسترین ۲ در حضور ژنوتیپ‌های مختلف جایگاه پلی‌مورفیسم rs7526084 و سایر مولکول‌های هدف پایین‌دستی آن بررسی گردد تا امکان توضیح مکانیسم دقیق دخالت ژن سسترین ۲ در مسیر بیماری‌زایی سنگ کلیه فراهم گردد.

## نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر بیانگر ارتباط معنی‌دار بین پلی‌مورفیسم rs7526084 ژن سسترین ۲ و خطر بروز سنگ کلیه است که نشان می‌دهد تغییر توالی ژن سسترین ۲ احتمالا 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 قدردانی خود را نسبت به کارشناس آزمایشگاه ژنتیک مولکولی سرکار خانم نسیبه 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, 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.

[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-03 ]

[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.

[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-03 ]