● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ بیست و دوم، شمارهٔ ۱، ص ۲۰-۱۲، ۱۳۹۳

مقالهٔ پژوهشی

شیوع پلی‌مورفیسم C825T درژن GNB3 در کودکان مبتلا به ریفلاکس وزیکویورترال در استان کرمان

محمدرضا بذرافشانی[۱]، سعیده پرورش*[۲]، نجمه نظام‌آبادی‌پور[۳]، فاطمه حسینی[۴]

خلاصه

مقدمه: ریفلاکس وزیکویورترال (Vesicoureteral Reflux: VUR)، یک نقص مادرزادی دستگاه ادراری است که تقریباً در یک درصد کودکان گزارش گردیده است. فاکتورهای ایمنولوژیکی و ژنتیکی متعددی به‌عنوان علل عمده ایجاد کننده این مشکل، ذکر شده‌اند. از جمله این فاکتورهای ژنتیکی که ممکن است در ایجاد و یا پیشرفت بیماری نقش داشته باشد، وجود پلی‌مورفیسم C825T ژن GNB3 می‌باشد. نقش مشارکتی این پلی‌مورفیسم در بیماری‌های مختلفی گزارش شده است، اما نقش آن در ایجاد و یا پیشرفت این بیماری هنوز به‌درستی تعیین نشده است.

روش: این مطالعه به صورت تحلیلی و به روش کنترل - مورد (Case-Control) در استان کرمان انجام گرفت. تعداد ۸۰ کودک مبتلا به ریفلاکس وزیکویورترال اولیه و به همین تعداد کودک سالم انتخاب شدند و شیوع پلی‌مورفیسم C825T ژن GNB3 به روش PCR-RLFP مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: در مجموع فراوانی ژنوتیپ هتروزیگوت CT ژن GNB3 در بیماران VUR نسبت به گروه کنترل از نظر آماری افزایشی معنی‌دار داشت (OR=۱/۹۲، P=۰/۰۱۲).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که پلی‌مورفیسم C825T ممکن است در ایجاد VUR اولیه نقش داشته باشد. با این حال، انجام مطالعات بیشتر به منظور مشخص کردن نقش این ژن به‌عنوان مارکری برای تعیین احتمال VUR لازم می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: پلی‌مورفیسم C825T، ژن GNB3، ریفلاکس وزیکویورترال

۱- استادیار، گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی افضلی‌پور و مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران ۲- استادیار، گروه کودکان، دانشکده پزشکی افضلی‌پور و مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران ۳- دستیار بیماری‌های کودکان، گروه کودکان، دانشکده پزشکی افضلی‌پور، کرمان، ایران ۴- آزمایشگاه ژنتیک پزشکی دکتر محمدرضا بذرافشانی کرمان، کرمان، ایران

* نویسنده مسؤول، آدرس پست الکترونیک: sparvaresh@yahoo.com

دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۳/۲۲ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۹۲/۱۱/۵ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۱۱/۹

مقدمه

ریفلاکس وزیکویورترال (VUR)، به معنای برگشت ادرار از مثانه به حالب و لگنچه کلیه است. VUR در دو شکل اولیه و ثانویه مشاهده می‌گردد؛ VUR اولیه یک اختلال تکاملی است که تقریباً در ۱٪ کودکان به صورت مادرزادی روی می‌دهد و در ۳۰٪ کودکان مبتلا به عفونت ادراری، به‌دنبال انجام VCUG، کشف می‌شود. این بیماری به علت ایجاد دریچه نارسا در محل اتصال حالب به مثانه ایجاد می‌شود (۲و۱)، در حالیکه VUR ثانویه معمولا به دنبال پروسه‌های التهابی و یا به دنبال جراحی‌های اورولوژیک روی می‌دهد (۱). همچنین، حالت ثانویه می‌تواند ناشی از ایجاد فشار بالای مایع در مثانه و یا جضورعوامل انسدادی باشد که باعث تسهیل ریفلاکس ادراری از اسفنکتر نارسا شده و درجه ریفلاکس را شدیدتر می‌کند (۳،۴). VUR اولیه شایع‌ترین بیماری ارثی سیستم ادراری تناسلی است که باعث افزایش استعداد به عفونت ادراری در شیرخواران می‌شود و همچنین خطر ایجاد اسکار کلیوی را افزایش می‌دهد (۵،۶). جراحت (اسکار) کلیوی مستقیما با افزایش احتمال خطر ریفلاکس نفروپاتی، پر فشاری خون و در نهایت نارسایی کلیوی در آینده همراه می‌باشد و به همین علت تشخیص به موقع و مدیریت مناسب ریفلاکس و عفونت‌های ادراری از اهمیت بسیار زیادی برای پیشگیری از عواقب مذکور برخوردار است (۷). ریفلاکس نفروپاتی تقریبا در ۲۵٪ اطفال تحت دیالیز و ۱۵-۱۰٪ بالغین در انتظار پیوند کلیه مشاهده می‌گردد (۸). این بیماری، به‌عنوان یک بیماری ژنتیک (اتوزومال غالب) شناخته شده و در ۵۰-۳۰٪ شیرخواران با عفونت ادراری و در بیش از ۱۰٪ نوزادان با هیدرونفروز مادرزادی دیده می‌شود (۸-۶). تظاهر بالینی، VUR، از فرم‌های بی‌علامت تا آسیب شدید پارانشیم کلیه و سرانجام آخرین مرحله بیماری کلیه (end stage renal disease) متغیر است (۲).

در مطالعات صورت گرفته تاکنون ژن‌های مختلفی برای تعیین ارتباط با VUR، بررسی شده‌اند تا مشخص کنند که آیا می‌توان با بررسی آن در بیمار و خواهر و برادران وی احتمال وجود VUR را مطرح کرد یا خیر، اما هنوز یک ژن اصلی که مسئول VUR باشد شناسایی نشده است (۶). مطالعات مختلف چندین ژن پیشنهادی را به‌عنوان ژن‌های مسئول VUR معرفی کرده‌اند. احتمالا یکی از ژن‌های دخیل در ایجاد پاتولوژی VUR ژن GNB3 (Guanine nucleotide –binding protein G sub unit beta 3) می‌باشد که بر روی کروموزوم 12p13 قرار گرفته است (۹). پروتئینG ، یک ارتباط دهنده بین سیگنال‌ها (پروتئین‌های موثر بر سلول) و گیرنده‌های سطح سلولی است و زیر واحد بتا این پروتئین به‌وسیله ژن GNB3 کد می‌شود (۱۰). موتاسیون C825T شایع‌ترین جهش ژن GNB3 می‌باشد که در نتیجه آن ۴۱ اسیدآمینه در این پروتئین حذف می‌شود. این فرایند باعث پر کار شدن پروتئین G و در نتیجه افزایش تاثیر سیگنال‌های سلولی می‌شود و به‌دنبال آن یک‌سری اختلالات و بیماری‌ها رخ می‌دهد (۱۱). در مطالعات مختلفی تأثیر این پلی‌مورفیسم بر هیپرتانسیون اولیه و بیماری‌های کاردیو وسکولار تأیید شده است (۱۱).

مطالعات محدودی در مورد نقش پلی‌مورفیسم‌های ژن GNB3 بر ایجاد بیماری VUR انجام شده است. در یک مطالعه انجام شده توسط Zagradisnik و همکاران. ۲۰۰۴، تاثیرپلی مورفیسم C825T تأیید شده اما در سایر مطالعات پلی ژنیک، این رابطه دیده نشده است (۹). از سوی دیگر، فراوانی ژنوتیپ‌های هر پلی‌مورفیسمی، در نژادهای مختلف، متفاوت است و از آنجایی که این ژن، به‌عنوان یک ژن احتمالی (کاندید) در VUR گزارش شده است، بررسی این ژن در بیماران ایرانی می‌تواند به‌عنوان یک مطالعه بالینی پایه اهمیت داشته باشد.

روش بررسی

در این مطالعه مورد-شاهدی (case–control) که در سال‌های ۹۱-۱۳۹۰ انجام شد، ۸۰ کودک (۴ تا ۸ سال) از شهر کرمان و شهرستان‌های تابعه که به علت عفونت ادراری در بیمارستان افضلی‌پور بستری و VUR اولیه توسط VCUG (سیستوگرافی رادیو نوکلوِید) در آنها اثبات شده بود، به روش نمونه‌گیری تصادفی انتخاب و وارد مطالعه شدند. به همان تعداد کودک سالم نیز به طور تصادفی از میان افراد جامعه و بدون سابقه ابتلای به عفونت ادراری یا مشکلات کلیوی و عدم سابقه فشار خون بالا در فرد و افراد درجه یک منسوب انتخاب شدند و پس از ارزیابی کامل اورولوژیکی و تایید عدم وجود VUR در گروه کنترل قرار گرفتند. کودکان پس از ارائه توضیحات لازم و اخذ رضایتنامه کتبی آگاهانه از والدین، وارد مطالعه شدند. کلیه مراحل طرح به تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمان رسیده بود (کد: ۹۱/۴۵/ک).

از هر یک از افراد مورد بررسی، ۵ میلی لیتر خون در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA-K2 جمع آوری و DNA از گلبول‌های سفید خون محیطی و بر اساس دستورالعمل کیت تخلیص DNA تولید شده توسط شرکت کیا ژن، آلمان (Biorobot ENI) استخراج گردید (این کیت بر اساس روش مولکولی Salting out طراحی گردیده است). برای تعیین کمیت و کیفیت DNA حاصل شده، ازدستگاه نانوفتومتر استفاده گردید. نمونه‌های دارای غلظت ۵۰ تا ۷۰ نانوگرم برای واکنش PCR استفاده شدند. ژنوتایپ جهش مورد بررسی با استفاده از روش PCR-RLFP تعیین گردید. غلظت بهینه مواد بکار رفته در واکنش زنجیره ای پلیمراز (تهیه شده از شرکت زیست فناوری کوثر) در حجم ۲۵ میکرولیتر، شامل یک و نیم میکرولیتر از کلرید منیزیم ۵۰میلی مولار ، ۲/۵ میکرولیتر بافر 10x، ۱ میکرولیتر از پرایمر GP-1 با توالی (5’-TGACCCACTTGCCACCCGTGC-3’) و ۱ میکرولیتر از پرایمر GP-2 با توالی (5’-GCAGCAGCCAGGGCTGGC-3’) (۱۰ پیکومول) (Thibaudin و همکاران. ۲۰۰۴)، ۰/۱ میکرولیتر از dNTPs (۱۰ میلی مولار)، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم Taq DNA polymerase، و نهایتا ۱ میکرولیتر از DNA نمونه‌های بیماران و گروه کنترل بود. نمونه‌ها در دستگاه پی سی آر(Flexcycler، Germany) قرار گرفت. برنامه دمایی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به ترتیب یک مرحله به صورت ۹۴ درجه سانتی‌گراد در زمان ۵ دقیقه، سپس ۳۵ چرخه دمایی به ترتیب: ۹۰ درجه سانتی گراد ۱ دقیقه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد ۱ دقیقه، ۷۲ درجه سانتیگراد ۱ دقیقه و یک مرحله نهایی ۷۲ درجه سانتیگراد ۱۰ دقیقه می باشد. محصول پی سی آر باند ۲۶۸ جفت بازی است (شکل ۱). این محصولات سپس با آنزیم محدود کننده Bsed I (شرکت فرمنتاز، آلمان) مورد هضم آنزیمی قرار گرفتند و بر روی ژل آگارز ۳ درصد بررسی شدند. درمحصول PCR هضم نشده، باند ۲۶۸ جفت بازی مشخصه ژنوتایپTT، درمحصولی که هضم کامل انجام شده، باندهای ۱۵۲ و ۱۱۶ جفت بازی مشخصه ژنوتایپCC می باشند. موارد هتروزیگوت، باندهای ۲۶۸، ۱۵۲ و ۱۱۶ جفت بازی (ژنوتایپ CT) را خواهند داشت (شکل ۲). در نهایت، داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS v.19 تجزیه و تحلیل شدند. به منظور توصیف داده‌ها از فراوانی نسبی و مطلق استفاده شد. از تست کای دو (chi square) برای مقایسه فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها در دو گروه استفاده شد. P<۰/۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌دار شدن آزمون در نظر گرفته شد.

نتایج

بررسی‌های انجام شده نشان داد که از مجموع ۸۰ کودک مبتلا به VUR، ۶۴ نفر (۸۰٪) دختر و ۱۶ نفر (۲۰٪) پسر بودند که نسبت مؤنث به مذکر، ۴ به ۱ بود. ۱۱ نفر (۱۳۸٪) از بیماران سابقه VUR را حداقل در یکی از افراد فامیل درجه یک خود داشتند.

۳۹ نفر (۴۶/۴٪) از بیماران درگیری هر دو کلیه چپ و راست را داشتند و تعداد ۴۱ نفر از بیماران (۴۸/۸٪) درگیری یک کلیه داشتند. فراوانی ژنوتیپ CT در گروه بیماران بیشتر از گروه کنترل و این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار بود، اما فراوانی ژنوتیپ‌های CC و CT در گروه بیماران VUR از نظر آماری معنی‌دار نشد. از طرف دیگر، فراوانی آلل‌ها در گروه کنترل بیشتر از گروه بیماران بود اما از نظر آماری معنی‌دار نبود (P=۰/۲۰۹) (جدول ۱). نتایج فراوانی ژنوتیپ‌ها و آلل‌ها از تعادل Hardy-Weinberg تبعیت می‌کرد. به‌طوری‌که مقدار P برای آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها بزرگ‌تر از ۰/۰۵ شد که این امر نشان دهنده حضور تعادل هاردی وینبرگ در این جمعیت می‌باشد.

جدول ۱. *توزیع فراوانی ژنوتایپ‌ها و آلل‌های مورد بررسی در گروه بیماران VUR و کنترل*

	گروه بیمار ۸۰نفر	گروه کنترل ۸۰ نفر	Chi-Square	p.v
TT	(۱۵) ۱۲	(۲۷/۵) ۲۲	۴/۶۵	*۰/۰۲۱ OR: ۰/۴۶۵, CI:(۰/۹۴۲-۰/۲۳)
CT	(۵۶/۳) ۴۵	(۴۰) ۳۲	۵/۶۸	*۰.۰۱۲ OR: ۰/۹۲, CI:(۱/۱۲– ۳/۳۲)
CC	(۲۸/۸) ۲۳	(۳۲/۵) ۲۶	۰/۳۴۹	۰/۳۳۱
T allele	(۴۳/۱) ۶۹	(۴۷/۵) ۷۶	۰/۸۲۲	۰/۲۰۹
C allele	(۵۶/۹) ۹۱	(۵۲/۵) ۸۴	۰/۸۲۲	۰/۲۰۹

*:معنادار است OR:نسبت شانس CI: فاصله اطمینان

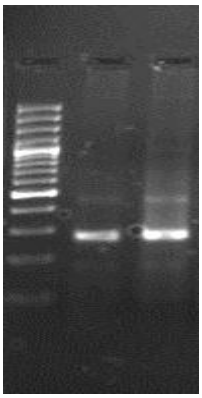
جدول ۲: *نتایج ارتباط بین پلی مورفیسم C825T ژن GNB3 و نسبت خویشاوندی درجه ۳ در والدین بیماران مبتلا به VUR*

	نسبت خویشاوندی والدین		P.V*
	دارد	ندارد	
TC	(۵۵/۶) ۲۵	(۴۴/۴) ۲۰	۰/۰۰۱>
CC	(۲۱/۷) ۵	(۷۸/۳) ۱۸	۰/۰۰۱
TT	(۲۵) ۳	(۷۵) ۹	۰/۰۰۳
T allele	(۴۴/۹)۳۱	(۵۵/۱)۳۸	۰/۴۲۳
C allele	(۳۸/۵)۳۵	(۶۱/۵)۵۶	۰/۴۲۳

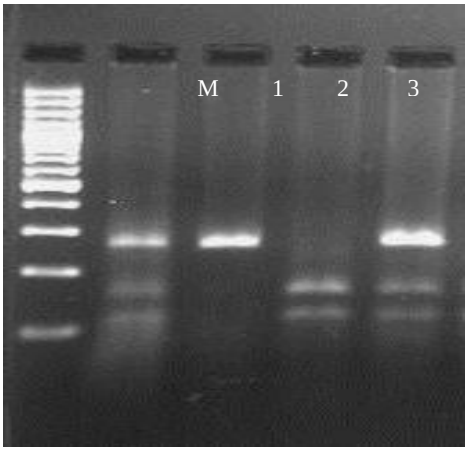
داده‌ها به صورت فراوانی (درصد) نشان داده شده است. *: بر اساس آزمون Chi-Square

نسبت خویشاوندی درجه ۳ در والدین کودکان مبتلا به VUR که دارای ژنوتیپ CT هستند نیز از لحاظ آماری معنی‌دار گردید (جدول ۲).

بر اساس بررسی‌های انجام شده، ژنوتیپ با جنسیت ارتباطی نداشت. از طرف دیگر، در این تحقیق ارتباط ژنوتیپ‌ها و آلل‌ها با سابقه فامیلی VURاز نظر آماری معنی‌دار نشد.



شکل ۱. *محصول PCR دو نمونه (۲۶۸ جفت باز)*



شکل ۲. *در این شکل سه ژنوتیپ حاصل از هضم آنزیم مشاهده می گردد. در نمونه شماره ۱ و٤ ژنوتیپ CT ،در نمونه شماره ۲ ژنوتیپ TT، درنمونه شماره ۳ ژنوتیپ CCM مارکر وزن مولکولی (GeneRuller 100 bp DNA Ladder,) به همراه نقش Ladder 100*

بحث و نتیجه‌گیری

عفونت ادراری یک علامت شایع در بیماران مبتلا بـه ریفلاکس ادراری است و تقریبا در یک سوم این بیمـاران درجاتی از آسیب پارانشیمال کلیوی مشاهده می‌شود که به آن "ریفلاکس نفروپاتی" گفته می‌شود. در صـورتی کـه یک ژن مسوول ریفلاکس تشخیص داده شود، مـی‌تـوان بیماران را پیش از ایجاد این عوارض پایش و درمان نمـود. علل ژنتیکی که در VUR و ریفلاکس نفروپاتی نقش دارند بطـور عمـده ناشـناخته هسـتند (۱۲،۱۳). نتـایج حاضـر، مشارکت بین پلی‌مورفیسم C825T و VUR اولیه را مطـرح

می کند، طی این بررسی تأیید شد که افراد هتروزیگوت CT دارای افزایش خطر ابتلا به این اوروپاتی مادرزادی هستند. از طرف دیگر، همانطور که می دانیم، ازدواج فامیلی درجه سه در ایران نسبت به سایر مناطق جهان شیوع دارد. بر اساس جدیدترین مطالعه بر روی بیش از ۳۰۰ هزار زوج از نژادهای مختلف ایرانی، حدود ۳۸ درصد از ازدواج‌ها از نوع خویشاوندی است که بیش از ۲۷ درصد از آنها ازدواج فامیلی درجه ۳ می باشند (۱۴). این نوع ازدواج سبب شیوع برخی از بیماری‌های نادر ژنتیکی در ایران نسبت به سایر نقاط جهان گردیده است و بنابراین پیامدهای منفی متعددی بر صحت سلامت نسل بعد دارد. در مطالعه ما بر روی جمعیت انجام شده ۴۱/۲ درصد دارای چنین ازدواجی بوده‌اند، به‌طوری که ۵۵/۶ درصد از این والدین، دارای فرزند ژنوتایپ CT می باشند که از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری را با نتایج غیرخویشاوندی نشان می دهد. بنابراین ممکن است ازدواج خویشاوندی در بروز ژنوتایپ CT نقش بازی کند که البته نیازمند مطالعه بر روی جمعیت بیشتری است. همچنین، مقایسه فراوانی آلل‌ها در گروه کنترل و بیماران از نظر آماری معنی‌دار نیست. در مطالعات انجام شده قبلی، مشخص شد که فراوانی‌های آللی پلی‌مورفیسم C825T بین نژادهای مختلف تفاوت زیادی دارد. فراوانی آلل 825T در الگوی بیماران ما نزدیک به فراوانی این آلل در جمعیت عمومی از نژادهای آسیایی (۴۶٪) بود، اما فراوانی این آلل نسبت به جمعیت اروپایی (۲۹٪) بیشتر و در مقایسه با جمعیت آفریقایی (۸۳٪) کمتربود (۱۵). بطور جالبی شیوع VUR در جمعیت‌های با منشا آسیایی و اروپایی مشابه، اما تعداد بیماران با VUR در نژاد آفریقایی به مراتب کمتر است (۱۸-۱۶).

در مطالعه Zagradisnik و همکاران (۲۰۰۴)، آلل T، به‌عنوان یک عامل خطر در ایجاد VUR اولیه و نه در همراهی با اسکار کلیه در جمعیت سفید پوست معرفی شده است (۹). همانطور که می‌دانیم ایجاد اسکار در کلیه به سن زمان تشخیص VUR، شدت VUR و مدت زمان پیگیری بیمار بستگی دارد (۱۹)، با این وجود، ارتباط این ژن با اسکار کلیه به راحتی رد نمی شود. این تفاوت‌ها، نقش پلی‌مورفیسم C825T در ایجاد VUR را دچار تردید می کند و احتمال حضور ژن‌های دیگر را مطرح کرده و VUR را بار دیگر به‌عنوان یک بیماری هتروژنیک معرفی می کند. در بزرگترین مطالعه ژنتیکی که اخیرا جهت بررسی ژن‌های مرتبط با VUR، بر روی ۴۴ ژن و ۵۶۷ Single Nucleotide Polymorphism (SNPs) انجام شده است، ژن‌های TGEB-1, GREM-1, ROBO-2 و EYA-1 به‌عنوان مارکرهای VUR شناخته شدند. این مطالعه بر این باور است که احتمالا ژن GNB3 و ژن‌های دیگر به‌عنوان ژن‌های موثر بر روی جوانه حالبی، در پاتوژنز VUR نقش دارند (۲۰).

احتمالا ژن GNB3 یک ژن کاندید اصلی، که باعث VUR شود نیست، اما ممکن است ژنوتایپ CT باعث تغییر در اثر و عملکرد ژن‌های دیگر شود، که سرانجام باعث تحت تاثیر قرار گرفتن فنوتیپ VUR گردد. یکی از این ژن هایی که می‌تواند تحت تاثیر قرار گیرد، ژن AGTR2 است (ژن رسپتور آنژیوتانسین ۲ تیپ ۲) که مسوول کد کردن رسپتور آنژیوتانسین ۲ به پروتئین G می‌باشد و همچنین نقشی به‌عنوان واسطه آپوپتوز در طول تکامل دوران جنینی در سیستم ادراری تناسلی دارد(۲۱).

پروسه اسکلروز در ریفلاکس نفروپاتی که از طریق سیستم رنین – آنژیوتانسین – آلدوسترون (RAA) اثر می کند، با واسطه رسپتورهای آنژیوتانسین ۲ می‌باشد. این رسپتورها از طریق G-proteinها عمل می کنند، بنابراین هرگونه تغییر در G-protein احتمالا می‌تواند اثرات آنژیوتانسین ۲ را تحت تاثیر قرار دهد (۲۲). بنابراین این پلی‌مورفیسم ممکن است نقش خود را به‌صورت مرتبط با VUR اولیه و نفروپاتی حاصل از ریفلاکس نشان دهد (۹). آنژیوتانسین ۲ به‌عنوان یک فاکتور رشد، در تکامل مجاری ادراری تحتانی نقش دارد و برای رشد و بلوغ کلیه لازم

است (۲۳). آنژیوتانسین ۲ با اثر روی رسپتور تیپ ۱ باعث القای رشد و با اثر روی رسپتور تیپ ۲ باعث تحریک آپوپتوز می‌شود (۲۴). آنژیوتانسین بطور مستقیم، سایر فاکتورهای رشد وابسته را تحریک می‌کند که شامل TGFB-1 (۲۵)، فاکتور رشد پلاکتی (PDGF) (۲۶) ، Adhesin molecules(۲۷) و اکتین عضلات صاف آلفا (۲۸) هستند که باعث شروع فیبروز، بد شکل قرارگیری کلاژن و دیلاتاسیون می‌باشند (۲۸).

در نهایت، انجام یک مطالعه بر روی بیماران از نژادهای مختلف ایرانی، و نیز بررسی اسکار کلیوی ناشی از ریفلاکس نفروپاتی، ضروری می‌باشد تا بتوان به نقش احتمالی این پلی‌مورفیسم بیشتر پی برد.

References

1. Devriendt K, Groenen P, Van Esch H Van Dijck M, Van de ven W, Fryns JP, et al. Vesico-ureteral reflux: a genetic condition? *Eur J Pediatr* 1998; 157: 265-271.
2. Williams G, Fletcher JT, Alexander SI, Craig JC. Vesicoureteral reflux. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19(5): 847-862.
3. Feather S, Woolf S, Mlcolm S, Wright V, Blaydon D, Proesmans W, Goodship J. Primary, nonsyndromic vesicouretericreflax and its nephropathy is genetically heterogenous, with a locus on choromosome. *Am J Hum Genet* 2000; 66: 1420-1425.
4. Gil Rushton JR. Vesicoureteral reflux and scarring. In: Avner E, Harmon W, Niaudet P (editors), Pediatric Nephrology. 5th ed., Lippinocott Williams &Wilkings; 2004; PP 1027-48.
5. Baka-Ostrowska M. Vesicoureteral reflux and urinary tract infections. *Pol Merkur Lekarski* 2008 ; 24(4): 95-7.
6. Anonymous. Vesicoureteral reflux: all in the genes? Report of a meeting of physicians at the hospital for sick children, Great Ormond Street, London Lancet. 1996; 348(9029):725-8.
7. Ricardo S, Levinson ME, Dejoseph MR, Diamond JR. Expression of adhesion molecules in rat renal cortex during experimental hydronephrosis. *Kidney Int* 1996; 50(6): 2002-15.
8. Bailey RR, Mailing TMJ, Swainson CP.Vesicoureteric reflux and reflux nephropathy. In: Scherier RW, Gottschalk CW (editors), Disease of the Kidney. 5th ed. Boston: Little, Brown & Co; 1993; 689-727.
9. Zagradisnik B, Bracic K, Varda NM, Kokalj Vokac N, Gregoric A. G-protein beta3 subunit gene C825T polymorphism in patients with vesicoureteric reflux. *Ann Genet* 2004; 47(3):209-16.
10. Rosskopf D, Busch S, Manthey I, Siffert W. G protein beta 3 gene: structure, promoter, and additional polymorphisms. *Hypertension* 2000; 36(1): 33–41.
11. Nejatizadeh A, Kumar R, Stobdan T, Pasha M.Q. Association of GNB3 C825T polymorphism with plasma electrolyte balance and susceptibility to hypertension. *Genet Mol Biol* 2011; 34(4):553-6.
12. Rosskopf D, Manthey I, Siffert W. Identification and ethnic distribution of major haplotypes in the gene GNB3 encoding the G-protein beta3 subunit. *Pharmacogenetics* 2002; 12(3): 209-20.
13. Howard RG, Roebuck DJ, Yeung PA, Chan KW, Metreweli C. Vesicoureteric reflux and renal scarring in Chinese children. *Br J Radiol* 2001; 74(880) 331-4.
14. Akrami M. Relative marriage from genetic counselor's ideas and point of views. *Joural*

of pediatric disease 2006; 3: 359-365 [In Persian].

15. Thibaudin L, Berthoux P, Thibaudin D, Mariat C, Berthoux F. G protein beta3 subunit C825T polymorphism in primary IgA nephropathy. *Kidney Int* 2004; 66(1): 322-28
16. Stiffert W, Forster P, Jockel KH, Mvere DA, Brinkmann B, Naber C, et al. Worldwide ethnic distribution of the G-protein beta3 subunit 825T allele and its association with obesity in Caucasian, Chines and Black African individuals. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10(9): 1921-30.
17. Hohenfellner K, Hunley TE, Yerkes E, Habermehl P, Hohenfellner R, Kon V. Angiotensin II, type 2 receptor in the development of VUR. *Br J U Int* 1999; 83(3): 318-22.
18. Howard RG, Roebuck DJ, Yeung PA, Chan KW, Metreweli C. Vesicoureteric reflux and renal scarring in Chinese children. *Br J Radiol* 2001; 74(880): 331-4.
19. Dyer P, Middleton D. Histocompatibility testing: a practical approach. New York:Oxford University Press Inc, 1993; PP 1-10.
20. Van Erde A.M, Duran K, Van Riel E, de Kovel C.G.F, Koeleman B.P.C, Knoers N.V.A.M, et al. Genes in the ureteric budding pathway: association study on vesico-ureteral reflux patients. *PLos One* 2012; 7(4): e31327.
21. Nishimura H, Yerkes E, Hohenfellner K, Miyazaki Y, Ma J, Hunley T.E, et al. Role of angiotensin type 2 receptor gene in congenital anomalies of the kidney and urinary tract, CACUT, of mice and men. *Mol Cell* 1999; 3(1): 1-10.
22. Chertin B, Solari V, Reen DG, Farkas A, Puri P. Upregulation of ACE gene expression induce tubulointerstitial injury in reflux nephropathy. Pediatr. Surg. Int. 2002; 635-639.
23. Hiraoka M, Taniguchi T, Nakai H, Kino M, Okada Y, Tanizawa A, et al. No evidence for AT2R gene derangement in human urinary tract anomalies. *Kidney Int* 2001; 59(4):1244-9.
24. Mikazaki Y, Ichikawa I. Role of the angiotensin receptor in the development of the mammalian kidney and urinary tract. *Comp Biochem Physol A Mol Integr Physiol* 2001; 128(1):89-97.
25. Kim S, Ohta K, Hamaguchi A, Omura T, Tokihito Y, Katsuyuki M, et al. Contribution of renal angiotensin 2 type 1 receptor to gene expressions in hypertension- induced renal *injury Kidney Int* 1994; 46:1346-58.
26. Johnson RJ, Alpers CE, Yoshmura A, Lombardi D, Pritzl P, Floege Y, et al. Renal injury from angiotensin -2- mediated hypertension. *Hypertension* 1992; 19(5): 464-74.

Prevalence of GNB3 C825T Gene Polymorphism in Children with Vesicoureteral Reflux in Kerman

Mohammadreza Bazrafshani Ph.D.[1], Saeedeh Parvaresh M.D. [2*], Najmeh NezamabadiPour M.D.[3], Fatemeh Hosseini M.Sc. [4]

1. Assistant professor of Medical Genetics, Afzalipour School of Medicine and Physiology Research center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

2. Assistant professor, Department of Pediatrics, Afzalipour School of Medicine and Physiology Research center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

3. Resident of Pediatrics, Afzalipour school of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

4. Researcher, Dr. Bazrafshani Medical Genetic Laboratory, Kerman, Iran

* Corresponding author; e-mail: sparvaresh@yahoo.com

(Received: 12 June 2013 Accepted: 29 Jan. 2014)

Abstract

Background & Aims: Vesicoureteral Reflux (VUR) is a congenital defect of the urinary tract which has been reported in approximately 1% of children. Several immunological and genetic factors are listed as major causes of this problem. The C825T polymorphism of the GNB3 gene is among the genetic factors that may be involved in the development or progression of the disease. Participatory role of this polymorphism has been reported in several diseases, but its role in the development or progression of this disease is still not set correctly.

Methods: This study, based on a Case-Control analysis, was carried out in Kerman province. A total of 80 children with VUR and 80 healthy children were selected and frequency of C825T polymorphism of the GNB3 gene was examined by using PCR-RLFP.

Results: The overall prevalence of heterozygous CT genotype of GNB3 gene in patients with VUR was significantly higher compared to the control group (P = 0.012, OR = 1.92).

Conclusion: These results suggest that the C825T polymorphism may be involved in establishing the initial VUR. However, further studies to determine the role of this gene as a marker for predicting the likelihood of VUR is required.

Keywords: C825T Polymorphism, GNB3 Gene, Vesicoureteral Reflux

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2015; 22(1): 12-20