مقاله تحقیقی

مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره بیستم، شمارهٔ ۹، شهریور ۱۳۹۷، صفحه ۲۷-۲۰

ارتباط بین چندشکلی ژن *CPEB1* (rs230846 C>T) با آزواسپرمی/الیگواسپرمی شدید

رضا کیان بستان‌آباد (MSc)[۱]، سعید قربیان (PhD)[۱*]

۱- گروه ژنتیک مولکولی، واحد اهر، دانشگاه آزاداسلامی، اهر، ایران

دریافت: ۹۷/۱/۱۵، اصلاح: ۹۷/۲/۱۷، پذیرش: ۹۷/۳/۷

خلاصه

سابقه و هدف: ژن *CPEB1* نقش مهمی در فرآیند گامت زایی ایفا می کند. با توجه به این که هنوز بسیاری از علل ناباروری مردان ناشناخته است، هدف از این مطالعه بررسی ارتباط بین چندشکلی ژن *CPEB1 (rs230846 C>T)* با آزواسپرمی/ الیگواسپرمی شدید با علت نامعلوم در مردان می باشد.

مواد وروش‌ها: این مطالعه مورد-شاهدی بر روی ۱۰۰ نمونه خون محیطی مردان آزواسپرم/ الیگواسپرم شدید با علت نامعلوم و ۱۰۰ نمونه خون محیطی مردان سالم مراجعه کننده به بخش ناباروری و نازایی بیمارستان الزهرا تبریز در طی سال‌های ۱۳۹۶-۱۳۹۴ انجام شد. با استفاده از روش PCR-RFLP برای تعیین فراوانی ژنوتیپ‌ها و سپس ارتباط بین چندشکلی با پارامترهای بالینی مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: فراوانی ژنوتیپی CT+TT/CC در چندشکلی ژن *CEBP1* در بین گروه‌های سالم و بیمار اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (۲/۲۲۰-۰/۷۳۰=CI, ۱/۲۷۳ , P=۰/۳۹۵OR=). علاوه براین،ارتباط معنی‌داری در هیچ‌کدامیک از پارامترهای بالینی MSC،FSC، و SMI با ژنوتیپ‌ها مشاهده نشد.

نتیجه گیری: یافته‌ها نشان داد که چندشکلی rs2303846 ژن *CEBP1* به‌عنوان عامل مستعد کننده خطر برای ابتلا مردان به ناباروری ناشی از آزواسپرمی/ الیگواسپرمی شدیدنقش ندارد.

واژه‌های کلیدی: آزواسپرمی، ناباروری مردان، الیگواسپرمی.

مقدمه

تقریباً در ۱۸-۱۳ درصداز زوجین مشکل باروری وجود دارد که نیمی از آن مربوط به مردان است. علت ناباروری مردان در ۴۰ درصد از موارد شناخته‌شده و در ۶۰ درصد از موارد از نظر آسیب‌شناسی قابل توجیه نیست. بنابراین درمان ناباروری در مردان مشکل‌تر از زنان است (۱). به‌طورکلی، علل ناباروری مردان به سه دسته عوامل ژنتیکی، غیر ژنتیکی و عفونی تقسیم‌بندی می‌شوند(۱و۲). مهم‌ترین عوامل ژنتیکی شامل سندرم کلاین فیلتر، xx male، سندرم Noon's، ریز حذف‌های کروموزوم Y، جهش‌های DNA میتوکندریایی، نقایص تک ژنی، بیان غیرطبیعیRNAهای غیر رمز کننده (non-coding RNA) و نقایص چندعاملی است (۸-۳). تخمین زده شده که در حدود ۲۰۰۰ ژن در کنترل این فرآیند نقش داشته باشند که بیشتر آن‌ها برروی کروموزوم‌های آتوزوم و تقریباً ۳۰ ژن نیز روی کروموزوم Y واقع شده باشند (۹). علی‌رغم تمام عوامل ذکر شده، هنوز بیش از ۱۵-۱۰ درصد ازعلل ناباروری مردان ناشناخته باقی مانده است و تاکنون هیچ علتی شناسایی نشده است که چنین مواردی تحت عنوان ناباروری آیدیوپاتیک مردان شناخته می‌شود (۱۰و۱۱). آزواسپرمی و الیگواسپرمی که بهعلت تغییرات ژنتیکی ایجاد می‌شوند بخش مهمی از علل ناباروری مردان را تشکیل می‌دهد. آزواسپرمی یکی از تظاهرات رایج عقیمی است که ۱۰ تا ۱۵ درصد از موارد ناباروری را تشکیل می‌دهد. مطالعات نشان می‌دهد عوامل ژنتیکی عامل بروز یک‌سوم از موارد آزواسپرمی است (۱۲و۱۳). ارتباط بین چندشکلی‌های ژنتیکی و استعداد ابتلابه ناباروری ازجمله مباحث پراهمیت و کاربردی به شمار می رود (۱۷-۱۴). در مطالعات اخیر نشان داده‌شد که حضور یک چندشکلی در ژن *CPEB*(rs2303846) عامل مستعد کننده خطر برای آزواسپرمی است. ژن *CPEB* زیر واحد آلفای هورمون گلیکوپروتئین را رمز می‌کند که با زیر واحدهای بتای گونادوتروپین‌ها و هورمون محرک تیروئید یک هورمون عملکردی را تشکیل و به گیرنده‌های مربوطه متصل می‌شوند. این ژن توزیع بافتی گسترده‌ای دارد و در انواع مختلفی از بافت‌ها ازجمله بیضه‌ها، تخمدان‌ها، سلول‌های جفتی و بافت‌های چربی بیان می‌شود (۱۸). ژن *CPEB* پروتئین مهمی را رمز می‌کند که عضوی از خانواده پروتئین‌های عنصر پلی آدنیلاسیون اتصال سیتوپلاسمی *CPEB* (CytoplasmicPolyadenylation Element Binding Protein) است که محصول پروتئینی، واجد یک توالی خاصی است که در تنظیم فرآیند ترجمه در تخمک‌زایی در مهره‌داران نقش دارد. این پروتئین در سیتوپلاسم و هسته دارای عملکرد بوده و ممکن است نقش مهمی در تکثیر سلولی و ایجاد تومور داشته باشد (۱۹). ژن *CPEB1* بر روی کروموزوم 15q25.2 قرار گرفته و دارای چهارده اگزون است که محصول آن یک پروتئین کاملاً حفاظت‌شده است. پروتئین‌های CPEB با متصل شدن به چند mRNA تخمک، ازجمله Smad1، Smad5، Spindlin، Bub1b، MOS، H1foo،

▣ این مقاله حاصل پایان نامه رضا کیان بستان‌آباد دانشجوی کارشناسی ارشد رشته ژنتیک و طرح تحقیقاتی به شماره ۹۵۱۰۰۱ دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر می باشد.

* مسئول مقاله: دکتر سعید قربیان

آدرس: آذربایجان شرقی، اهر، دانشگاه آزاداسلامی، واحد اهر، گروه ژنتیک مولکولی. تلفن: ۴۴۲۳۲۱۶۲ -۰۴۱

E-mail: ghorbian20@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.9.3.7]

[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.9.20]

Obox1، Dnmt1o، TiParp، Trim61 و Gdf9 باعث رشد تخمک و توسعه فولیکولی می‌شود (۲۰). تاکنون فقط دو مطالعه در ارتباط با نقش چندشکلی‌های ژن *CPEB1* با ناباروری مردان گزارش شده است (۱۸و۲۱). در اولین مطالعه‌ای که توسط Zhang و همکاران انجام‌شده بود، حضور یک چندشکلی در ناحیه 3′-UTR ژن *CPEB1* را به عنوان عامل مستعد کننده خطر برای ابتلا مردان به ناباروری در جمعیت چینی گزارش کرده بودند (۱۸). علاوه براین، YadollahyKhaless و همکاران در بررسی خود نشان دادند که فراوانی این چندشکلی در بین گروه‌های مورد مطالعه اختلاف معنی داری دارد (۲۱). به دلیل وجود اختلاف در فراوانی آلل‌ها در قومیت‌ها و نژادهای مختلف، این مطالعه برای اولین بار فقط بر روی نژاد خاص ترک آذری در ایران انجام شده است. از طرفی، با توجه به این که فقط نتایج مطالعات اندک نمی تواند در جهت تأیید ارتباط یک چندشکلی با یک اختلال خاص در نظر گرفته شود، لذا هدف از این مطالعه بررسی ارتباط بین چندشکلی(rs2303846) ژن*CPEB1* با خطر ابتلا مردان به آزواسپرمی/الیگواسپرمی شدید با علل ناشناخته در افراد مراجعه‌کننده به بیمارستان الزهرا شهر تبریز انجام شد.

مواد و روش ها

این مطالعه مورد–شاهدی بر روی ۱۰۰ نمونه خون محیطی مردان آزواسپرم/ الیگواسپرم شدید و ۱۰۰ نمونه خون محیطی مردان سالم (دارای فرزند، باروری طبیعی، فاقد سوابق خانوادگی ناباروری و طبیعی از نظر تعداد اسپرم) است که به بخش ناباروری و نازایی بیمارستان الزهرا تبریز در طی سال‌های۱۳۹۶–۱۳۹۴، جهت درمان مراجعه کرده بودند، انجام شد. تعیین حجم نمونه با استفاده از فرمول کوکران با در نظر گرفتن p=۰/۱ (نسبتی از جمعیت دارای صفت معین)، مقدار متغیر نرمال واحد استاندارد در میزان اطمینان ۹۵ درصد(Z=۱/۹۶) و میزان خطای قابل تحمل (d=۰/۰۴) به تعداد ۲۰۰ نمونه (۱۰۰ نمونه مردان بارور و۱۰۰ نمونه مردان نابارور آزواسپرم/ الیگواسپرم شدید) با علل نامعلوم برآورد شد. مردان ناباروری که در ارزیابی‌های متخصصین اورولوژی، نازایی و ژنتیک پزشکی به صورت آزواسپرم/ الیگواسپرم شدید با علت نامعلوم گزارش شده و براساس نتایج اسپرموگرام تعداد اسپرم کمتر از ۵ میلیون در میلی لیتر مایع منی داشتند و از نظر ناهنجاری سیتوژنتیکی با روش G-Banding و آزمایش های مولکولی از نظر ریزحذف های کروموزوم Y در نواحی AZF(Azoospermia Factor) مورد ارزیابی قرار گرفته بودند و علل خاصی گزارش نشده بود، انتخاب شدند. در مواردی که در پرونده بیماران علت ناباروری ذکر شده بود از مطالعه حذف گردیدند. در گروه سالم، مردان باروری که دارای فرزند، باروری طبیعی و فاقد سوابق خانوادگی ناباروری بودند و دارای نتایج اسپرموگرام طبیعی بودند، انتخاب شدند. بعد از اخذ رضایت‌نامه از افراد موردبررسی و با رعایت کامل موازین اخلاقی، از هرکدام ۲ میلی‌لیتر نمونه خون محیطی در ویال‌های حاوی ضد انعقاد EDTA با کد اختصاری و بدون اطلاع از هویت شخص از کارشناس مربوطه دریافت و DNA ژنومی با روش Salting-Out(۲۲) استخراج شد.توالی نوکلئوتیدی آغازگرها با نرم‌افزار Primer 3 طراحی و پس از BLAST کردن در سایت NCBI اختصاصت آغازگرهای طراحی‌شده ارزیابی شد.

سپس توالی ژن (Accession number: NM_001079533)جهت انتخاب آنزیم محدودالاثر اختصاصی، در نرم‌افزار NEB cutter وارد و در نهایت آنزیم محدودالاثر اختصاصی RsaI(۱۸) تعیین گردید(جدول ۱). جهت ارزیابی کمیت و خلوص DNA ژنومیک بادستگاه نانودراپ(Thermo Scientific، آمریکا) تعیین گردید. برای بررسی فراوانی چندشکلی ژن *CPEB1*از تکنیک PCR-RFLP استفاده گردید. به‌منظور تکثیر ناحیه اختصاصی،از۱ میکرولیتر DNA(۵۰ng)، ۱ میکرولیتر (۱۰pmole) آغازگرهای مستقیم و معکوس، ۱۳ میکرولیتر از Master Mix Red 2x (Ampliqon، دانمارک) و ۹ میکرولیتر آب مقطر و در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر مخلوط شدند. جهت انجام واکنش PCR از دستگاه ترموسایکلر (Eppendorf،آلمان) استفاده شد. مراحل تکثیر با یک واسرشته سازی ۹۵°C به مدت ۸ دقیقه، سپس ۳۲ دور در دمای ۹۵°C به مدت ۳۰ ثانیه، دمای اتصال ۵۷/۷°C به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲°C به مدت ۶۰ ثانیه تکرارشد. درنهایت، تکثیر در دمای ۷۲°C به مدت ۸ دقیقه انجام شد. محصولات تکثیری قبل از هضم آنزیمی، برروی ژل آگارز ۱٪ بارگذاری و بارنگ Safe Stain (سینا ژن،ایران) رنگ‌آمیزی شدند. جهت تعیین فراوانی ژنوتیپ‌های چندشکلی ژن *CPEB1* محصول PCR باآنزیم محدودالاثر Rsa I (Fermentas، آلمان) و بر اساس پروتکل شرکت سازنده هضم آنزیمی انجام شد. به این منظور،۱۰ میکرو لیتر محصول PCR، ۲ میکرو لیتر از Buffer10x، ۱ میکرو لیتر آنزیم و ۱۷ میکرو لیتر آب مقطر مخلوط و به مدت ۶ ساعت در دمای ۳۷°C انکوبه شد. قطعات حاصل از هضم آنزیمی با ژل آگارز ۴٪ جدا و با رنگ آمیزی Safe Stain شناسایی شدند. نتایج حاصل از ارزیابی افراد گروه‌های سالم و بیمار ازنظر فراوانی ژنوتیپی، با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ و آزمون آماری مجذور کای مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. جهت مقایسه پارامترهای بالینی با نوع ژنوتیپ از آزمون t-test استفاده شد و p<۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

جدول ۱. توالی آغازگرهای استفاده‌شده جهت تکثیر ناحیه چندشکلی ژن(rs2303846) *CPEB1* (۱۸).

آنزیم محدودالاثر	اندازه محصول (جفت باز)	دمای اتصال (°c)	توالی آغازگر (5′ → 3′)	چندشکلی ژن *CPEB1*
Rsa I	۱۱۹	۵۷/۷	Forward: 5′–TGGCAGGTCAGGCAAGCAGC–3′ Reverse: 5′–GCAGAAACAAAGACAGATTCAGCAAG–3′	rs2303846

یافته ها

میانگین سن افراد گروه سالم ۶/۲۲±۴۳ سال (در محدوده سنی ۶۳–۲۳ سال) و گروه بیمار ۵/۴۳±۴۲ سال (در محدوده سنی ۵۹–۲۵ سال) بود که اختلاف معنی داری بین دو گروه مشاهده نشد. انتظار ۳ نوع ژنوتیپ متشکل از (هموزیگوت سالم) CC، (هتروزیگوت) CT و (هموزیگوت جهش یافته) TT وجود داشت (جدول۲). بعد از هضم آنزیمی، طول قطعات حاصل برای هموزیگوت سالم (CC) ۱۱۹ جفت باز، برای هتروزیگوت (CT) ۱۱۹، ۲۴ و ۹۵ جفت باز و برای هموزیگوت جهش (TT) ۹۵ و ۲۴ جفت باز حاصل شد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.9.3.7]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.9.20]

جدول ۲. فراوانی ژنوتیپ‌های چندشکلی ژن *CPEB1* (rs230846 C>T) در افراد گروه‌های سالم و بیمار

گروه	سالم تعداد(درصد)	بیمار تعداد(درصد)
هموزیگوت سالم(CC)	۲۲(۴۹)	۲۳(۵۱)
هتروزیگوت(CT)	۴۴(۴۷)	۵۰(۵۳)
هموزیگوت جهش‌یافته(TT)	۳۴(۵۶)	۲۷(۴۴)

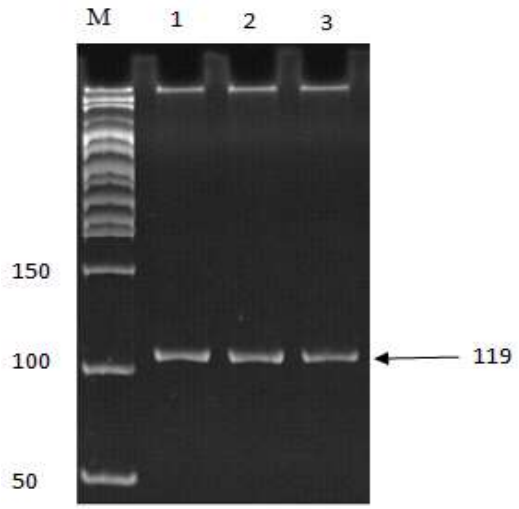
p=۰/۵۴۶

فراوانی ژنوتیپی برای افراد بیمار و سالم در سه الگوی وراثتی هم بارزی(Codominant)، غالب (Dominant) و مغلوب (Recessive) مورد ارزیابی قرار گرفت. فراوانی ژنوتیپ‌ها در بین دو گروه مورد ارزیابی در الگوی توارثی هم‌بارزی، ازنظر آماری اختلاف معنی داری را نشان نداد (p=۰/۳۹۵؛ ۲/۲۲-CI=۰/۷۳؛ OR/۲۷۳)(جدول۳). تصویری از ژل الکتروفورز محصولات تکثیری PCR با طول ۱۱۹ جفت باز برای ژن *CPEB1* در شکل ۱ نشان داده شده است.

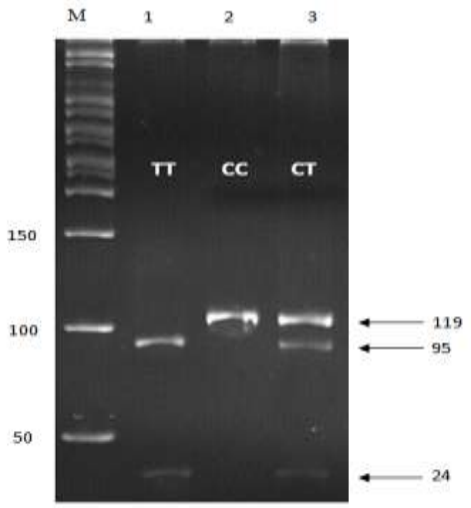
علاوه براین، نمونه‌ای از تصویر ژل الکتروفورز حاصل از واکنش PCR-RFLP در شکل ۲ نشان داده شده است. در این تصویر، ستون ۱ فردی با ژنوتیپ هموزیگوت جهش یافته (TT)، ستون ۲ فردی با ژنوتیپ هموزیگوت سالم (CC) و ستون ۳ فردی با ژنوتیپ هتروزیگوت (CT) را نشان داده است. به‌طورکلی در هیچ‌یک از الگوهای توارثی Codominant، Dominant و Recessiveاختلاف معنی‌داری در فراوانی ژنوتیپی بین گروه‌های مورد ارزیابی مشاهده نشد (جدول ۳). همچنین، ضمن مقایسه فراوانی حامل‌ها (هتروزیگوت‌ها) با غیر حامل‌ها در الگوی توارثی هم بارزی، اختلاف معنی‌داری بین دو گروه نشان داده نشد (p=۰/۸۶۶؛ ۱/۸۳۴-CI=۰/۴۸۶؛ OR=۰/۹۴۴). علاوه براین، پارامترهای بالینی دیگری ازجمله، غلظت اسپرم‌های دارای مورفولوژی طبیعی (FSC;Functional Sperm Concentration) غلظت اسپرم‌های حاوی پیش‌رونده (MSC; Motile Sperm Concentration)، حرکت، مورفولوژی و شاخص کیفیت نمونه با در نظر گرفتن تعداد (SMI; Sperm Motility Index) در بین افراد گروه بیمار با ژنوتیپ‌های مختلف ارتباط معنی داری در هیچ‌کدامیک از پارامترها با ژنوتیپ‌ها مشاهده نشد (جدول ۴).

جدول ۳. مقایسه فراوانی چندشکلی ژن *CPEB1* در مردان گروه سالم و بیمار در الگوهای توارثی مختلف مراجعه کننده به بخش ناباروری و نازایی بیمارستان الزهرا تبریز در طی سال‌های ۱۳۹۶-۱۳۹۴

الگو	گروه	بیمار تعداد(درصد)	سالم تعداد(درصد)	OR	CI-95% بالا	CI-95% پایین	P
غالب	CC	۲۳(۵۱)	۲۲(۴۹)	۱/۰۵۹	۱/۰۵۷	۰/۵۴۵	۰/۸۶۶
	CT+TT	۷۷(۴۹)	۷۸(۵۱)				
هم بارزی	CT	۵۰(۵۳)	۴۴(۴۷)	۱/۲۷۳	۲/۲۲۰	۰/۷۳۰	۰/۳۹۵
	CC+TT	۵۰(۴۷)	۵۶(۵۳)				
مغلوب	TT	۲۷(۴۴)	۳۴(۵۶)	۰/۳۹۲	۲/۲۸۲	۱/۳۱۵	۰/۷۱۸
	CC+AT	۷۳(۵۳)	۶۶(۴۷)				



شکل ۱. نتایج PCR برای چندشکلی ژن *CEBP1* در ژل آگارز ۱٪. M: شاخص وزن مولکولی ۵۰ جفت بازی (۵۰bp)، ستون‌های ۱، ۲ و ۳: محصول تکثیری ۱۱۹ جفت بازی ژن *CEBP1*.



شکل۲. نتایج PCR-RFLP برای چندشکلی ژن *CEBP1* در ژل آگارز ۴٪. M: شاخص وزن مولکولی ۵۰ جفت بازی(۵۰bp)، ستون ۱: هموزیگوت جهش یافته (TT)، ستون ۲: هموزیگوت سالم (CC)، ستون۳: هتروزیگوت(CT).

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.9.3.7]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.9.20]

جدول ۴. ارتباط بین پارامترهای بالینی با ژنوتیپ‌های چندشکلی ژن *CPEB1* (rs230846 C>T) در مردان گروه بیمار

پارامترهای بالینی		چندشکلی ژن *CPEB1* (rs230846 C>T)			P-value
		CC	CT	TT	
سن (سال)	≤ ۵۰	۲۶	۳۴	۱۲	۰/۶۳۴
	> ۵۰	۹	۱۲	۷	
SMI	≤ ۵۰	۱۴	۲۲	۹	۰/۸۵۰
	> ۵۰	۱۸	۱۸	۸	
FSC	I	۱۵	۲۰	۶	۰/۸۱۴
	II	۱۵	۲۱	۹	
	III	۵	۵	۴	
MSC	۱-۵	۱۴	۲۲	۹	۰/۸۵۰
	۶-۱۰	۱۸	۱۸	۸	

***آنالیز آماری با آزمون t-Test، سطح معنی داری ۰/۰۵ p<FSC; Functional Sperm Concentration;MSC; Motile Sperm Concentration، SMI; Sperm Motility Index**

بحث و نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر برخلاف ارزیابی‌های قبلی، ارتباط معنی داری بین چندشکلی ژن *CPEB1* با افزایش خطر ابتلا مردان به آزواسپرمی/ الیگواسپرمی شدید با علت نامعلوم را نشان نداد. مطالعات نشان داده است که حضور چندشکلی در ژن *CPEB1* باعث تغییر در جایگاه‌های اتصال miRNA شده و خطر بیماری‌های پیچیده ژنتیکی همچون ناباروری را در مردان افزایش می‌دهد (۱۸). این ژن به‌عنوان یک تنظیم‌کننده در فرآیند ترجمه در سلول‌های جنسی حائز اهمیت است (۲۳).

نتایج مطالعات Tay و همکارانش نشان داد که در طی سرکوب ژن *CPEB1*، اندازه غدد جنسی در موش‌ها کاهش یافته و به طبع آن گامت‌های کمتری نسبت به موش‌های سالم تولید شده بود. کاهش تولید گامت‌ها به خاطر توقف در مسیر تکاملی در طی مرحله پاکیتن میوز I حادث شده بود چرا که تنظیم دم پلی A در طی فرآیند ترجمه مولکول‌های mRNA که در شکل‌گیری پروتئین‌هایی که در سیناپتونمال کمپلکس نقش دارند، به‌واسطه پروتئین CPEB1 انجام می شود (۲۳). پروتئین CPEB1 در میزان پایداری بسیاری از مولکول‌های mRNA دخیل در طی فرآیند گامت زایی نقش دارد (۲۵و ۲۴).

در مطالعه‌ای که توسط Zhang و همکارانش بر روی ۴۴۹ مرد آزواسپرم و یا الیگواسپرم شدید و ۳۵۷ مرد سالم انجام‌شده بود، نشان دادند که حضور یک چندشکلی در ناحیه 3´-UTR ژن *CPEB1* ارتباط معنی داری با خطر ابتلا به ناباروری در جمعیت چینی دارد. در این مطالعه با استفاده از ابزارهای miRanda، Targetscan نشان داده بودند که وجود این چندشکلی می‌تواند بر کیفیت اتصال miR-663 و miR-668 تأثیرگذار باشد(۱۸). این در حالی است که نتایج مطالعه حاضر برخلاف گزارش قبلی ارتباطی بین این چند شکلی با خطر ناباروری مردان نشان نداد.

در تحقیقی YadollahyKhaless و همکارانش بر روی ۷۰ مرد سالم و ۷۰ مرد نابارور(آزواسپرم/الیگواسپرم) مراجعه کننده به مرکز ناباروری قم انجام داده بودند، اختلاف معنی‌داری را در فراوانی ژنوتیپ‌های CC و TT در بین افراد دو گروه گزارش کرده بودند (۲۱). در تحقیق ما، بیشترین فراوانی‌ها مربوط به ژنوتیپ‌های هتروزیگوت(CT) بودند، ولی در مطالعه YadollahyKhaless و همکاران فراوانی هتروزیگوت‌ها صفر و فراوانی ژنوتیپی را در نژادهای مختلف(کرد، لر، عرب، گیلکی، فارس و ترک) به‌صورت یکنواخت و همگن گزارش کرده بودند و اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند. البته چنین نتیجه گیری‌ای با این تعداد اندک از افراد با قومیت و نژاد مختلف بایستی بااحتیاط بیشتری انجام شده باشد. در مطالعه حاضر که بر روی ۱۰۰ مردآزواسپرم/الیگواسپرم شدید با نژاد ترک آذری صورت گرفته بود نتایج کاملاً متناقضی نشان داده شد. در توجیه این اختلافات دیده شده بین نتایج بررسی‌های صورت گرفته برروی این چندشکلی و اهمیت ارزیابی آن در ناباروری مردان، می‌توان عنوان کرد که شاید توزیع آللی در مناطق جغرافیایی مختلف به شکل متفاوتی باشند.

این احتمال هم ممکن است مطرح باشد که تفاوت در نژاد، قومیت و زمینه ژنتیکی افراد مختلف مورد مطالعه نقش داشته باشد.همچنین، معیارهای مختلفی که در انتخاب گروه بیماران و سالم در نظر گرفته می‌شود می‌تواند منتهی به اختلاف در نتایج ارزیابی‌ها گردد. البته گاهی این‌چنین اختلافاتی می تواند به دلیل خطاهای ناشی از نمونه گیری و آنالیز داده‌ها باشد. ویژگی‌های این مطالعه این است که در انتخاب نمونه‌های بیماران، معیارهای ورود و خروج از مطالعه بادقت و حساسیت بالایی انجام شد و فراوانی چندشکلی rs2303846 در الگوهای توارثی مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت که در هیچ‌کدامیک از الگوها، اختلاف معنی‌داری در فراوانی ژنوتیپ‌ها در بین دو گروه مورد بررسی مشاهده نشد.

علاوه براین، در این ارزیابی ارتباط بین هریک از ژنوتیپ های چندشکلی rs2303846 با پارامترهای بالینی ازجمله سن، FSC، MSC و SMI در مردان نابارور مورد آنالیز قرار گرفت که در هیچ‌کدامیک از این شاخص‌ها، ارتباط معنی داری نشان داده نشد. در طی ارزیابی‌های بیوانفورماتیکی نشان داده‌شده بود که درنتیجه جایگزین شدن آلل T به‌جای C در چندشکلی rs2303846 ژن *CPEB1* ممکن است که مولکول‌های تنظیم کننده miRNA در اتصال به ناحیه حضور چندشکلی مولکول‌های mRNA حاصل از ژن *CPEB1* کارایی کمتری داشته باشند و منجر به تداوم در بیان ژن هدف گردد. به‌طوری که باید بعد از ایفای نقش ژن *CPEB1*، بیان آن مهار گردد که باوجود آلل جهش یافته T

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.9.3.7]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.9.20]

این عملکرد مهاری متوقف خواهد شد و پیامدهای حاصل از آن تأثیرات منفی‌ای خواهد بود که در طی اسپرماتوژنز نشان می‌دهد (۲۵). البته جهت تأیید نتایج گزارش شده، به انجام مطالعات وسیع‌تر و در جمعیت‌هایی بانژادها و قومیت‌های متفاوتی نیاز است و نمی‌توان ژنتیکی بودن یک اختلال خاص را با نتایج گزارش‌های چند مطالعه اندک در جمعیت‌های خاص عنوان کرد.

در تحقیق انجام‌شده نشان داده شد که حضور چندشکلی ژن *CPEB1* نمی‌تواند توجیهی برای استعداد ابتلا به اختلالات آزواسپرمی/الیگواسپرمی شدید و ناباروری در مردان جمعیت موردبررسی داشته باشد. درنتیجه شاید بتوان عنوان کرد که ارزیابی این چندشکلی نتواند به‌عنوان بیوماکر در تشخیص علل ناباروری در مردان مورد توجه قرار گیرد. البته جهت تأیید نتایج این چندشکلی با ناباروی مردان، نیازمند آن است که در جمعیت‌هایی با نژادهای مختلف و مناطق جغرافیایی متفاوت مورد بررسی مجدد قرار گیرد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر و کلیه شرکت‌کنندگان و افرادی که در این مطالعه مارا یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.9.3.7]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.9.20]

Association the Study of Between Cpeb1 (Rs230846 C>T) Gene Polymorphism And Azoospermia/ Severe Oligospermia

R. Kian Bostanabad (MSc)[1], S. Ghorbian (PhD)[1*]

1.Department of Molecular Genetics, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 20(9); Sep 2018; PP: 20-7
Received: Apr 4, 2018; Revised: May 7, 2018; Accepted: May 28, 2018.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: : *CPEB1* gene plays a significant role during gametogenesis. Due to remain unclear many causes of male infertility, we aimed to evaluate the association between of *CPEB1* rs2303846 gene polymorphism with the risk of men with idiopathic azoospermia/ severe oligospermia.

METHODS: The present study is a case-control investigation, were performed on 100 peripheral blood samples of men with idiopathic azoospermia/ severe oligozoospermia and 100 blood samples of healthy men, who were referred to department of infertility and sterility of Tabriz Al-Zahra hospital from 2015 to 2017. The PCR-RFLP method was used to determine the frequency of genotypes and then compared the relationship between polymorphism and clinical parameters.

FINDINGS: The genotypes frequency of *CEBP1* gene polymorphism CT+TT/CC did not show a statistically significant difference between groups (P=0.395, OR=1.273; CI=0.730-2.220). In addition, no significant correlation was found between genotypes and FSC, MSC and SMI clinical parameters ($p<0.05$).

CONCLUSION: Findings revealed that *CEBP1* rs2303846 gene polymorphism cannot to be considered as a risk factor for idiopathic azoospermia/ severe oligospermia men.

KEY WORDS: *Azoospermia, Male Infertility, Severe oligospermia*.

Please cite this article as follows:
R. Kian Bostanabad, S. Ghorbian. Association the Study of Between Cpeb1 (Rs230846 C>T) Gene Polymorphism And Azoospermia/ Severe Oligospermia. J Babol Univ Med Sci. 2018;20(9): 20-7.

[*]**Corresponding Author: S. Ghorbian (PhD)**
Address: Department of Molecular Genetics, Islamic Azad University, Ahar Branch, Ahar, East Azarbaijan, I.R.Iran
Tel: +98 41 44232162
E-mail: ghorbian20@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.9.3.7]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.9.20]

References

1. Cong J, Li P, Zheng L, Tan J. Prevalence and risk factors of infertility at a rural site of northern China. PloS One. 2016:13;11(5):0155563.

2. Miyamoto T, Minase G, Shin T, Ueda H, Okada H, Sengoku K. Human male infertility and its genetic causes. Rep Med Bio. 2017:16(2):81-8.

3. Colaco S, Modi D. Genetics of the human Y chromosome and its association with male infertility. Rep Biol Endocrinol. 2018;16(1):14.

4. Ghorbian S. Routine diagnostic testing of Y chromosome deletions in male infertile and subfertile. Gene. 2012:15;503(1):160-4.

5. Ghorbian S. Micro-RNAs, next-generation molecular markers in male infertility field. Tran Androl Urol. 2012:16;1(4):245-6.

6. Poursadegh Zonouzi A, Poursadegh Zonouzi AA, Ghorbian S. PiRNAs interacting proteins, candidate molecular marker for evaluation of idiopathic male infertility. Andrologia. 2014;46(8):823.

7. Chen X, Li X, Guo J, Zhang P, Zeng W. The roles of microRNAs in regulation of mammalian spermatogenesis. J Animal Sci Biotechnol. 2017;8(1):35.

8. Hong Y, Wang C, Fu Z, Liang H, Zhang S, Lu M, et al. Systematic characterization of seminal plasma piRNAs as molecular biomarkers for male infertility. Sci Report. 2016;12(6):24229.

9. Kothandaraman N, Agarwal A, Abu-Elmagd M, Al-Qahtani MH. Pathogenic landscape of idiopathic male infertility: new insight towards its regulatory networks. NPJ Gen Med. 2016;17(1):16023.

10. Miyamoto T, Minase G, Okabe K, Ueda H, Sengoku K. Male infertility and its genetic causes. J Obs Gynaecol Res. 2015;41(10):1501-5.

11. AbuFaza M, Abdelazim IA, Osman HS, Alsharif DA. Evaluation of infertile men: Mini-review. Asian Pac J Reproduct. 2016;5(6):459-61.

12. Evangelini E, Lymberopoulos G, Asvestis C. Genetic aspects of azoospermia and severe oligozoospermia in Greek infertile men. Hellenic Urol. 2016:30;28(2).

13. Krausz C, Escamilla AR, Chianese C. Genetics of male infertility: from research to clinic. Reproduct. 2015:1;150(5):159-74.

14. Xiong DK, Chen HH, Ding XP, Zhang SH, Zhang JH. Association of polymorphisms in glutathione S-transferase genes (GSTM1, GSTT1, GSTP1) with idiopathic azoospermia or oligospermia in Sichuan, China. Asian J Androl. 2015:17(3);481.

15. Trang NT, Huyen VT, Tuan NT, Phan TD. Association of N-acetyltransferase-2 and glutathione S-transferase polymorphisms with idiopathic male infertility in Vietnam male subjects. Chem-biolog Interact. 2018:25;286:11-6.

16. Ashrafzadeh HR, Nazari T, Tezerjani MD, Bami MK, Ghasemi-Esmailabad S, Ghasemi N. Frequency of TNFR1 36 A/G gene polymorphism in azoospermic infertile men: A case-control study. Inter J Reproduct BioMed. 2017;15(8):521.

17. Sato Y, Hasegawa C, Tajima A, Nozawa S, Yoshiike M, Koh E, Kanaya J, Namiki M, Matsumiya K, Tsujimura A, Komatsu K. Association of TUSC1 and DPF3 gene polymorphisms with male infertility. Journal of assisted reproduction and genetics. 2018;35(2):257-63.

18. Zhang H, Liu Y, Su D, Yang Y, Bai G, Tao D, Ma Y, Zhang S. A single nucleotide polymorphism in a miR-1302 binding site in CGA increases the risk of idiopathic male infertility. Fertil Steril. 2011;96(1):34-9.

19. Giangarrà V, Igea A, Castellazzi CL, Bava FA, Mendez R. Global Analysis of CPEBs Reveals Sequential and Non-Redundant Functions in Mitotic Cell Cycle. PLoS One. 2015:10(9):0138794.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.9.3.7]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.9.20]

20. Tšuiko O, Nõukas M, Žilina O, Hensen K, Tapanainen JS, Mägi R, et al. Copy number variation analysis detects novel candidate genes involved in follicular growth and oocyte maturation in a cohort of premature ovarian failure cases. Hum Reprod. 2016:31(8);1913-25.

21. YadollahyKhaless A, Kalhor N, Atri Roozbahani G. Association between CPEB1 gene polymorphism and Iranian male infertility. SSU J. 2017;25(8):612-20.

22. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucl Acid Res. 1988: 11;16(3):1215.

23. Tay J, Richter JD. Germ cell differentiation and synaptonemal complex formation are disrupted in CPEB knockout mice. Dev Cell. 2001;1(2):201-13.

24. Simon R, Tassan JP, Richter JD. Translational control by poly (A) elongation during Xenopus development: differential repression and enhancement by a novel cytoplasmic polyadenylation element. Gen Dev. 1992;6(12):2580-91.

25. Gebauer F, Hentze MW. Fertility facts: male and female germ cell development requires translational control by CPEB. Molecular of Cell. 2001:8(2):247-9.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.9.3.7]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.9.20]