بررسی ارتباط پلی مورفیسم ژن کولین دهیدروژناز rs۱۲۶۷۶ با نا باروری در جمعیتی از مردان نا بارور استان گیلان

میلاد پور جعفر [۱]، حمید رضا وزیری*[۲]، طوبا میرزا پور

۱) گروه ژنتیک، پردیس دانشگاهی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۲) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۳) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۱/۱۶ تاریخ پذیرش:۹۵/۳/۱۸

چکیده

مقدمه: در حدود ۵۰ ٪ موارد نا باروری به دلیل فاکتور های مردانه است. شواهدی وجود دارد که نشان می دهد، سوخت و ساز نا بجای ریز مغذّی ها ممکن است نقش مؤثّری در نا باروری مردان داشته باشد. کولین یک عامل حیاتی در تنظیم ساختار و سیّالیت غشای اسپرم است. این ماده ی مغذّی نقش مهمی در بلوغ و ظرفیت غشای اسپرم دارد. پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs۱۲۶۷۶ (c.233T > G) در ژن کولین دهیدروژناز که منجر به جایگزینی اسید آمینه آرژنین به لوسین در موقعیت ۷۸ پروتئین محصول این ژن می شود، می تواند میزان و فعّالیت این آنزیم و در نتیجه متابولیسم کولین، فرآیند تحرک سپرم، لقاح و باروری را تحت تأثیر قرار دهد. هدف از انجام این مطالعه، بررسی ارتباط پلی مورفیسم ژن کولین دهیدروژناز rs۱۲۶۷۶ با نا باروری در مردان می باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، ۵۰ مرد نا بارور و ۵۰ مرد سالم از استان گیلان مورد بررسی قرار گرفتند. DNA ژنومی از خون محیطی استخراج گردید **و** تعیین ژنوتیپ با روش PCR-RFLP انجام شد. نتایج حاصل با نرم افزار Med Calc (v12.1.4.0) مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته های پژوهش: تفاوت معنی داری در توزیع آلل G و T در بین افراد سالم و بیمار وجود داشت **(**$P<0.05$**)**. فراوانی ژنوتیپ های GG، GT و TT در افراد بیمار به ترتیب برابر با ۲۸٪، ۵۰ ٪ و ۲۲ ٪ بود و در افراد سالم فراوانی ها برابر با ۵۲٪، ۳۶ ٪ و ۱۲٪ بودند و تفاوت معنی داری در توزیع این فراوانی بین افراد بیمار و سالم وجود داشت **(**$P<0.05$**)**.

بحث و نتیجه گیری: به نظر می رسد ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسم rs۱۲۶۷۶ با نا باروری مردان در جمعیت مورد مطالعه هم از لحاظ ژنوتیپی و هم اللی وجود دارد. جهت تایید این یافته ها، مطالعات بیش تری در جمعیت های جغرافیایی یا نژادی مختلف با تعداد بیش تری از بیماران و افراد کنترل لازم می باشد.

واژه های کلیدی: پلی مورفیسم ، کولین دهیدروژناز، نا باروری ایدیو پاتیک مردان، واکنش زنجیره ای پلیمراز

* **نویسنده مسئول** : گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه ، دانشگاه گیلان ، رشت، ایران

Email: vaziri129@yahoo.com

Copyright © 2017 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-29]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.5.42]

مقدمه

به عدم توفیق زوجین در آبستنی پس از طی یک سال مقاربت های منظم و متوالی، بدون بهره گیری از روش های پیشگیری از آبستنی، نا باروری گفته می - شود (۱). حدود نیمی از موارد نا باروری به دلیل فاکتور های مردانه می باشد (۲). در ۵۸-۳۷ ٪ از موارد نا باروری در مردان هیچ دلیل قابل شناسایی دیده نمی شود. نا باروری ایدیو پاتیک در مردان، به عنوان کاهش غیر قابل توصیف در کیفیت منی حداقل در یک یا چند پارا متر (تعداد، حرکت، مورفولوژی) و با تست جسمانی و اندو کرینی طبیعی تعریف می شود (۲) . شناخت و درک نا هنجاری ها و تنوّع‌های ژنتیکی و چگونگی تاثیر بر اسپرماتو ژنز و لقاح، شانس غلبه بر نا باروری مردان را افزایش می دهد. شواهدی وجود دارد که نشان می دهد سوخت و ساز نا بجای ریز مغذّی ها، ممکن است نقش مؤثّری در نا باروری با علل مردانه بازی کند (۳). ارتباط بین وضعیت کلی تغذیه ای و تولید مثل به خوبی مشخص شده است و شواهدی وجود دارد که نشان می دهد سوخت و ساز نا بجای ریز مغذّی ها ممکن است نقش مؤثری در نا باروری با علل مردانه داشته باشد. کمبود ویتامین های A، C، E و هم چنین فلزات ضروری مانند روی و سلنیوم با نا باروری مردان در ارتباط است. هم چنین گزارش شده است که متابولیسم کولین هم با نا باروری مردان در ارتباط است (۳). کولین یک مادّه ی مغذّی ضروری محلول در آب است که معمولاً در گروه ویتامین های B-complex قرار می گیرد و برای رشد طبیعی جنین نیز اهمیت دارد (۴). کولین و متابولیت - های آن از جمله بتائین، نقش حیاتی در متابولیسم و نقل و انتقال چربی ها، فرایند متیلاسیون و بیوسنتزهای نورو ترنسمیتر ها دارند(۵). رونوشت هایی از ژن کولین دهیدروژناز (CHDH) در بیضه ی انسان مشاهده شده است که نشان دهنده ی بیان این ژن در این بافت است(۶). کولین دهیدروژناز با اکسیداسیون کولین به بتائین در غشای داخلی میتوکندری نقش مهمی در متابولیسم کولین دارد (۲). بتائین به عنوان یک متابولیت کولین، گروه های متیل را از همو سیستئین برای تشکیل متیونین در اختیار می‌گذارد و یک اسمولیت آلی است که توسط سلول ها برای تنظیم آب سلول و در نتیجه کنترل حجم سلول استفاده می‌شود. هم چنین محیط پایداری را برای حفظ ساختار پروتئین ها و عملکرد آنزیم ها و نهایتاً اعمال سلولی فراهم می‌کند (۸،۷). ژن CHDH دارای تعداد زیادی پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی می‌باشد که یکی از مهم ترین آن ها که روی فعالیت آنزیم اثر می گذارد، پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs۱۲۶۷۶ می - باشد. این پلی مورفیسم ناشی از جا به جایی باز گوانین با باز تیمین در نوکلئوتید شماره ۴۳۲ (+432T>G) از ابتدای mRNA یا نوکلئوتید ۲۳۳ از جایگاه آغاز ترجمه (c.233T>G) در اگزون شماره ۳ این ژن می باشد که منجر به جایگزینی اسید آمینه آرژنین به لوسین در موقعیت ۷۸ پروتئین (p.Leu78Arg) محصول این ژن می شود. این جایگزینی در قسمت کدینگ آنزیم رخ می دهد و روی میزان آنزیم اثر می گذارد بنا بر این یک پلی مورفیسم عملکردی می باشد (۳). مطالعات قبلی نشان داده است که افراد حامل آلل ضعیف T با افزایش استعداد ابتلا به اختلال عملکرد ارگان، با مصرف کم کولین در رژیم غذایی و افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان در ارتباط هستند. هم چنین اطّلاعات نشان می دهند که پلی مورفیسم مذکور ممکن است بر روند اسپرماتو ژنز انسان و در نتیجه بر پتانسیل باروری مردان تأثیر بگذارد (۳). هدف از این تحقیق بررسی ارتباط پلی مورفیسم rs۱۲۶۷۶ ژن کولین دهیدروژناز با ناباروری مردان بود. نتایج این تحقیق شاید بتواند در زمینه پیش آگهی و درمان این بیماری بهره برداری شود.

مواد و روش ها

در این تحقیق، ۱۰۰ مرد از استان گیلان مورد بررسی قرار گرفتند که از این تعداد ۵۰ نفر مبتلا به نا باروری بودند و ۵۰ نفر نیز مردان باروری بودند که به عنوان گروه کنترل یا سالم در نظر گرفته شدند. محدوده سنی در مردان نا بارور ۴۵-۲۶ سال و میانگین سنی ۳۵/۲۲ سال بود. در گروه کنترل نیز محدوده سنی

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-29]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.5.42]

افراد ۴۱-۲۷ سال و میانگین سنی برابر با ۳۳/۸۵ سال بود که از این نظر تطابق سنی بین افراد در گروه های مورد مطالعه وجود داشت. خصوصیات کلی افراد مورد بررسی، در جدول ۱شماره نشان داده شده است. آنالیز استاندارد مایع منی بر اساس معیار های سازمان سلامت جهانی در افراد نا بارور انجام شد نتیجه ی آزمایش اسپرموگرام افراد بیمار حالت لوکو اسپرمی (Leucospermia)، الیگو اسپرمی (Oligozoospermia)، تراتوزو اسپرمی (Teratozoospermia)، استنوزو اسپرمی (Asthenozoospermia) و نرمو اسپرمی (Normospermia) را نشان داد. این افراد حداقل دو سال تحت درمان پزشک معالج خود بوده اند. افراد کنترل نتیجه ی آزمایش اسپرمو گرام آن ها طبیعی بود و حداقل دارای یک فرزند بودند. افراد شاهد و بیمار در این بررسی سابقه‌ی بیماری های خاص مانند سرطان و سایر بیماری های حاد را نداشتند و از مشروبات الکلی و مواد مخدر استفاده نمی‌کردند. از تمام افراد شرکت کننده در این مطالعه رضایت نامه ی کتبی بر اساس توافق نامه اخلاقی هلسینکی فنلاند دریافت شد. پس از اخذ رضایت نامه، ۱ میلی لیتر خون از آنان اخذ شد و جهت استخراج DNA در لوله های حاوی EDTA به آزمایشگاه انتقال داده شد. DNA ژنومی توسط کیت GPP-Solution (محصول شرکت ژن پژوهان) از لوکوسیت‌های خون محیطی و طبق دستور العمل شرکت سازنده استخراج گردید. به منظور بررسی کیفیت DNA استخراج شده، روش الکتروفورز افقی انتخاب شد. تعیین ژنوتیپ با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی مراز به روش هضم آنزیمی PCR-RFLP انجام شد. برای انجام PCR از پرایمر های مربوطه (جدول۲) استفاده شد. تکثیر به روش واکنش زنجیره ای پلیمراز، بر اساس پروفایل حرارتی شامل: واسرشت سازی اولیه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵°c، ۳۵ سیکل با برنامه ۹۵°c (۱ دقیقه)، ۵۰/۸°c (۱ دقیقه)، ۷۲°c (۱ دقیقه) و در نهایت به مدت ۵ دقیقه در ۷۲°c در دستگاه ترمو سایکلر (محصول شرکت BioRad) انجام شد. سپس محصولات حاصل از PCR روی ژل آگارز ۲ درصد، الکتروفورز گردید و آشکار سازی باند ها توسط دستگاه ژل داک (محصول شرکت BioRad) انجام شد. باقیمانده ی محصول جهت هضم آنزیمی به مدت ۳ ساعت در مجاورت آنزیم *PauI* (*BssHII*) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت. پس از اتمام مدت انکوباسیون، محصولات مجدداً روی ژل آگارز ۳ درصد الکتروفورز و مورد بررسی قرار گرفتند (شکل ۱). در پایان آنالیز داده ها با استفاده از نرم افزار Med Calc نسخه ۱۲ انجام شد.

یافته های پژوهش

در این تحقیق به منظور بررسی فراوانی آللی (T و G) و ژنوتیپ های CHDH (TT ، GT و GG) در جمعیت مورد مطالعه (۵۰ فرد بیمار و ۵۰ فرد کنترل) از روش PCR-RFLP استفاده گردید. همان طور که در جدول شماره ۳ مشخص است در بین افراد بیمار، فراوانی آلل های G و T به ترتیب برابر با ۵۳ و ۴۷ درصد و در افراد سالم به ترتیب برابر با ۷۰ و ۳۰ درصد بود. تفاوت مشاهده شده بین افراد بیمار و سالم با توجه به نتیجه آزمون Chi-Square (P=۰/۰۲ و χ^2=۵/۴۰) از لحاظ آماری معنی دار بود. بنا بر این توزیع نوع آلل مربوطه در بین افراد سالم و بیمار متفاوت است و حضور آلل T با توجه به میزان نسبت شانس (OR) برابر۲/۰۶ و P<۰/۰۵ یک فاکتور خطر محسوب می-شود. در رابطه با فراوانی ژنوتیپ های CHDH نتایج نشان داد که در بین افراد بیمار فراوانی ژنوتیپ های GG، GT و TT به ترتیب برابر با ۲۸، ۵۰ و ۲۲ درصد و در افراد سالم به ترتیب برابر با ۵۲، ۳۶ و ۱۲ درصد بود. تفاوت مشاهده شده بین افراد بیمار و سالم با توجه به نتیجه آزمون Chi-Square (P=۰/۰۴ و χ^2=۶/۲۱) از لحاظ آماری معنی دار بود و با توجه به میزان OR برای ژنوتیپ های GT و TT که برابر با ۳/۴۰،۲/۵۷ و P <۰/۰۵ بود. نتایج پیشنهاد می کند که احتمالاً این ژنوتیپ ها خطر ابتلا به نا باروری را در مردان افزایش می دهد و فاکتور منفی محسوب می شوند.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-29]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.5.42]

جدول۱: مشخصات گروه های بیمار و شاهد مورد مطالعه.

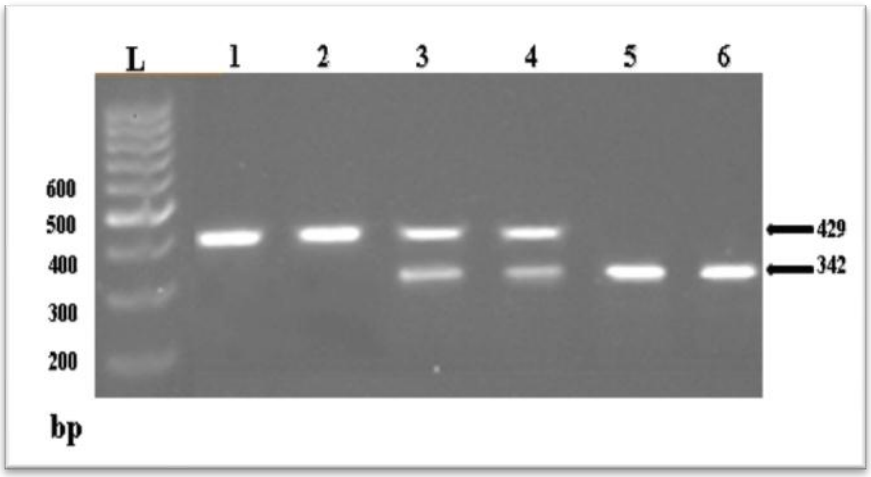
مشخصات	شاهد تعداد (درصد)	بیمار تعداد (درصد)
مصرف سیگار	(۸)۴	(۲۰)۱۰
مصرف الکل	(۴)۲	(۸)۴
مصرف مواد مخدر	(۲)۱	(۶)۳
سابقه خانوادگی بیماری	۰	(۱۰)۵

جدول۲: توالی پرایمرهای مورد استفاده در PCR

ژن	دمای اتصال (°C)	اندازه قطعه تکثیر شده (bp)	توالی آغازگرها
CHDH	۵۰/۸	۴۲۹	F:5'ATACCCTGGATATGCGGAGTT-3´ R:5´-GCACCAGTTGTACCTGTCG -3´

جدول۳: فراوانی ژنوتیپی و آللی پلی مورفیسم rs۱۲۶۷۶ ژن کولین دهیدروژناز در مردان مبتلا به نا باروری و مردان بارور

ژنوتیپ/آلل	شاهد تعداد(درصد)	بیمار تعداد(درصد)	OR فاصله اطمینان۹۵٪	ارزش *P*
GG	(۵۲)۲۶	(۲۸)۱۴	۱(مرجع)	--
GT	(۳۶)۱۸	(۵۰)۲۵	۲/۵۷(۱/۰۶-۶/۲۷)	۰/۰۳
TT	(۱۲)۶	(۲۲)۱۱	۳/۴۰(۱/۰۳-۱۱/۱۷)	۰/۰۴
G	(۷۰)۷۰	(۵۳)۵۳	۱(مرجع)	--
T	(۳۰)۳۰	(۴۷)۴۷	۲/۰۶(۱/۱۵-۳/۶۹)	۰/۰۱



شکل ۱: تصویر ژل آگارز ۳٪ مربوط به هضم آنزیمی ژن *CHDH* با آنزیم PauI (BssH). ردیف های ۱ و ۲ که تک باند می باشند مربوط به ژنوتیپ TT، ردیف های ۳ و ٤ که تحت هضم با آنزیم ۳ باند تشکیل داده اند مربوط به ژنوتیپ هترو زیگوت GT و ردیف های ۵ و ٦ با دو باند مربوط به ژنوتیپ GG می باشند که ۲ باند تشکیل می دهد. L، DNA مارکر ۱۰۰ جفت بازی. قطعات ٤۲۹ و ۳٤۲ جفت بازی قابل رویت و با فلش مشخص شده اند اما قطعه ۸۷ جفت بازی قابل رویت نبود.

بحث و نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان می‌دهد که بین پلی مورفیسم ژن کولین دهیدروژناز rs۱۲۶۷۶ و نا باروری در جمعیتی از مردان استان گیلان ارتباط معنی داری از نظر آماری وجود دارد. این پلی مورفیسم باعث تغییر نوکلئوتید گوانین به تیمین در سطح mRNA و تغییر اسید آمینه آرژنین (با خاصیت آب دوستی) به اسید آمینه لوسین (با خاصیت آب گریزی) در کدون ۷۸ آنزیم کولین دهیدروژناز می‌شود. این تغییر در صورتی که در جایگاه فعال آنزیم صورت گیرد بسیار حائز اهمیت است که می‌تواند منجر به از دست رفتن فعالیت آن گردد. نتایج تحقیقات اخیر اهمیت تنوعات ژنتیکی ژن ها در

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-29]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.5.42]

اتیولوژی بیماری ها را بسیار برجسته کرده است. به نظر می رسد که نا هنجاری های ژنتیکی ناشناخته مانند حذف ها، جا به جایی های کروموزومی و پلی مورفیسم های تک نوکلئوتیدی (SNP) علّت بسیاری از موارد نا باروری در مردان می‌باشد(۳).

در مطالعات گذشته نقش کولین به منزله ی یک منبع مهم از گروه متیل در رژیم غذایی انسان مورد تایید قرار گرفته است (۹). کولین و متابولیت های آن نقش اساسی در تشکیل گروه دهنده ی متیل به نام S-Adenosyl Methionine (SAM) دارد که در بیش از ۸۰ واکنش متیلاسیون بیو لوژیکی از جمله متیلاسیون DNA، RNA و پروتئین ها دخیل است. حدود ۵۶٪ فسفو لیپید های غشای پلاسمایی اسپرم حاوی کولین و اتانول آمین فسفو گلیسرید است (۱۰). علاوه بر این گلیسرو فسفوریل کولین و کولین سنتز شده توسّط سلول های اپی تلیال اپیدیدیم، برای بلوغ اسپرم لازم هستند(۱۱). این شواهد نقش احتمالاً مهم متابولیسم کولین در روند اسپرماتو ژنز را حمایت می-کند. تغییرات آنزیم های شرکت کننده در متابولیسم کولین از جمله کولین دهیدروژناز به دلیل تنوع توالی ژنی و پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی، احتمالاً می تواند روند اسپرماتو ژنز را تحت تأثیر قرار دهد (۶). کولین دهیدروژناز، کولین را به بتائین آلدهید و سپس به بتائین تبدیل می کند، ۵ مولکول ATP در خلال اکسید اسیون یک مولکول کولین به بتائین تولید می گردد (۱۲). غلظت بسیار بالای بتائین در بیضه در مقایسه با کبد، اندامی که تصوّر می شود اصلی ترین مکان برای متابولیسم کولین باشد، پیشنهاد می کند که بتائین احتمالاً نقش حیاتی احتمالی در عملکرد بیضه ها دارد. محیط اپیدیدیم نسبتاً هیپر اسمتیک است (حدود ۳۴۰mmol/kg)، در مقابل اسملاریته ی قسمت غیر مایع کل منی و مایع دستگاه تناسلی زنان ۲۷۶–۳۰۲ mmol/kg است. این مسئله نشان می دهد که اسپرم ها متحمّل یک چالش اسمزی در مجرای خروجی مثانه ی مرد می شوند و عدم توانایی تنظیم حجم در پاسخ به محیط های اسمزی متنوّع، اسپرم را مستعد تورّم می‌کند که می تواند در حرکت آن اختلال ایجاد کند. پس این امکان وجود دارد که بتائین از طریق اثر اسمزی بلوغ اسپرم را تغییر دهد (۱۴،۱۳).

تا کنون مطالعات بسیار معدودی در مورد ارتباط پلی مورفیسم ژن کولین دهیدروژناز با کاهش توان باروری انجام شده است. اهمیت این ژن بر سیستم تولید مثلی مرد با مطالعه ای که روی ناک اوت ژن مذکور روی موش های مذکر صورت گرفته است، تأیید شده است. اختلال باروری این موش ها عمدتاً به دلیل کاهش تحرّک اسپرم، مورفولوژی غیر طبیعی میتوکندری، اختلال در قطبیت غشای داخلی میتوکندری و کاهش مقدار ATP اسپرم بوده است(۱۵). مطالعه بر روی پلی مورفیسم ژن کولین دهیدروزناز نتایج جالب توجه و گاهی اوقات متناقض داشته است. به عنوان مثال در مطالعه ی لازاردو و همکاران در سال ۲۰۱۲، آلل Tاثر منفی روی غلظت اسپرم نشان داد و افراد دارای ژنوتیپ TT از پلی مورفیسم مذکور، کم ترین غلظت اسپرم را نشان دادند. در مقابل هیچ ارتباطی بین rs۱۲۶۷۶ ژن کولین دهیدروژناز و تحرّک اسپرم دیده نشد(۶). در مطالعه ی ژوهانسون در سال ۲۰۱۲، گروه ژنوتیپی TT از پلی مورفیسم مذکور بالا ترین میزان اختلال مایع منی را در میان همه ی گروه ها نشان داد. هم چنین افرادی که دست کم یک آلل T را داشتند، تحرّک کم تری را در مقایسه با افراد GG نشان دادند (۳). مشابه یافته های فوق در مطالعه ای که توسط ابراهیمی و همکاران در سال ۲۰۱۴ انجام شد، ارتباط معنی داری بین این پلی مورفیسم با نا باروری با علل نا شناخته (ایدیو پاتیک) مشاهده کردند (۱۶). در مطالعه ی حاضر، ارتباط قابل توجّه بین پلی - مورفیسم rs۱۲۶۷۶ ژن کولین دهیدروژناز و نا باروری مردان مشاهده گردید. با توجّه به یافته های فوق، فرضیه ی ما بر این است که آلل T ممکن است بر فعّالیت کولین دهیدروژناز تأثیر منفی گذارد و منجر به کاهش پتانسیل باروری مرد شود. نتایج مطالعه اخیر، ارتباط مستقیم بین پلی مورفیسم rs۱۲۶۷۶ با نا باروری مردان را در جمعیتی از مردان استان گیلان به اثبات رساند. با وجود این که تعداد کم افراد حاضر در این مطالعه ممکن است قدرت نتیجه گیری را تحت تأثیر قرار داده باشند، اما یافته ها نشان دهنده ارتباط

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-29]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.5.42]

آنزیم کولین دهیدروژناز با پتانسیل باروری مرد است. تطبیق نتایج اولیه ی این مطالعه در گروه های بیمار بزرگ تر، اندازه گیری هم زمان سطح کولین دهیدروژناز بیضه، رونوشت ها و فعّالیت آنزیم حاصل از آن و ارزیابی بلوغ هسته ای اسپرم، ممکن است دلیلی بر ارتباط پلی مورفیسم این ژن با اسپرماتو ژنز غیر طبیعی باشد. بررسی ارتباط این پلی مورفیسم و نا باروری در سایر نقاط جهان به ندرت انجام شده است. با انجام تحقیقات گسترده در سطح جغرافیایی وسیع تر و گروه های نژادی بیش تر روی این پلی مورفیسم و سایر پلی مورفیسم ها می توان به نتایج قابل استناد تری دسترسی یافت. در صورت اثبات دخالت این تنوعات ژنتیکی در عملکرد این آنزیم ها، رژیم غذایی مناسب از نظر کولین به عنوان یک راه کار مناسب درمانی در پیشگیری از نا باروری اتخاذ گردد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاری صمیمانه بیماران مبتلا به نا باروری و افراد سالم در این مطالعه و معاونت محترم پژوهشی دانشگاه گیلان به دلیل حمایت مالی بخشی از پروژه تشکر و قدردانی می گردد.

References

1. Jungwirth A, Giwercman A, Tournaye H, Diemer T, Kopa Z, Dohle G, et al. EAU working group on male infertility. European association of urology guidelines on male infertility the 2012 update. Eur Urol 2012; 62:324-32.
2. Hamada A, Esteves SC, Agarwal A. The role of contemporary andrology in unraveling the mystery of unexplained male infertility. Open Reprod Sci J 2011; 4:27-41.
3. Johnson AR, Lao S, Wang T, Galanko JA, Zeisel SH. Choline dehydrogenase polymorphism rs12676 is a functional variation and is associated with changes in human sperm cell function. PLos One 2012; 7: 36047.
4. Zeisel SH. Choline homocysteine and pregnancy. Am J Clin Nutr 2005; 82:719-20.
5. Zeisel SH, Blusztajn JK. Choline and human nutrition. Annu Rev Nutr 1994; 14:269-96.
6. Lazaros L, Xita N, Hatzi E, Kaponis A, Makrydimas G, Takenaka A, et al. Phosphatidylethanolamine N-methyltransferase and choline dehydrogenase gene polymorphisms are associated with human sperm concentration. Asian J Androl 2012; 14:778-83.
7. Huang S, Lin Q. Functional expression and processing of rat choline dehydrogenase precursor. Biochem Biophys Res Commun 2003; 309:344-50.
8. Garcia-Perez A, Burg MB. Role of organic osmolytes in adaptation of renal cells to high osmolality. J Membr Biol 1991; 119:1-3.
9. Niculescu MD, Zeisel SH. Diet, methyl donors and DNA methylation: interactions between dietary folate, methionine and choline. J Nutr 2002; 132:2333S-5S.
10. Hall JC, Hadley J, Domant T. Correlation between changes in rat sperm membrane lipids, protein, and the membrane physical state during epididymal maturation. J Androl 1991; 12:76-87.
11. Arrata WS, Burt T, Corder S. The role of phosphate esters in male fertility. Fertil Steril 1978; 30:329-33.
12. Kagawa T, Wilken DR, Lardy HA. Control of choline oxidation in liver mitochondria by adenine nucleotides. J Biol Chem 1965; 240:1836-42.
13. Cooper TG, Yeung CH. Acquisition of volume regulatory response of sperm upon maturation in the epididymis and the role of the cytoplasmic droplet. Microsc Res Tech 2003; 61:28-38.
14. Yeung CH, Sonnenberg E, Cooper TG. Infertile spermatozoa of c-ros tyrosine kinase receptor knockout mice show flagellar angulation and maturational defects in cell volume regulatory mechanisms. Biol Reprod 1999;61:1062-9.
15. Johnson AR, Craciunescu CN, Guo Z, Teng YW, Thresher RJ, Blusztajn JK, et al. Deletin of murine choline dehydrogenase results in diminished sperm motility. FASEB J 2010; 24:2752-61.
16. Ebrahimi M, Vaziri H, Bahadori M, Ajamian F. Genetic variation of choline dehydrogenase gene in idiopathic male infertility. Prog Biol Sci 2014; 4:123-31.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-29]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.5.42]

Exploring the Link Between Choline Dehydrogenase Gene Polymorphism (rs12676) and in a Guilanian Infertile Men population

Poorjafar M[1], Vaziri H [2], Mirzapoor T[3]*

(Received: April 4, 2016 Accepted: June 7, 2016)

Abstract:

Introduction: Approximately 50% of infertility cases are due to male factor. There is some evidence that aberrant micronutrient metabolism such as choline plays a critical role in male factor infertility. Choline is a crucial factor in the regulation of sperm membrane structure and fluidity, and plays an important role in the maturation and fertilizing capacity of spermatozoa. Choline dehydrogenase (*CHDH)* single nucleotide polymorphism (SNP) (rs12676) changes arginine to leucine amino acid substitution at position of 78 of the protein. This can alter the amount and activity of the CHDH enzyme and thus affect the metabolism of choline, sperm motility, fertilization, and fertility. The aim of this study was to investigate the association of *CHDH* gene (rs12676) polyporphism with male infertility.

Materials & methods: In this study 50 infertile men and 50 fertile men of Guilan province population were enrolled. Genomic DNA was extracted from peripheral blood. Genotypes were determined by polymerase chain reaction (PCR) and restriction fragment length polymorphism (RFLP). Statistical analysis was performed using the MedCalc program (v12.1.4.0).

Findings: There was a significant difference in allele G and T distribution between patients and healthy subjects**.** The prevalence of genotype frequencies of GG, GT, TT were 28%, 50% and 22% respectively, in patients, while in healthy subjects were 52%, 36% and 12% respectively. In other words there was a significant difference in the genotype distribution of this SNP in patients compared to controls ($P<0.05$).

Discussion & conclusions: It seems that a significant association was found between *CHDH* **(rs12676)** polymorphism and male infertility. Larger and different racial and geographical-based studies with more patients and controls are needed to confirm our findings.

***Keywords*:** Choline dehydrogenase, Male infertility, Polymorphism, PCR

1.Dept of Genetics, University Campus, Guilan University, Rasht, Iran
2.Dept of Biology, Faculty of Sciences, Guilan University, Rasht, Iran
3.Dept of Biology, Faculty of Sciences, Mohaghegh Ardebili University, Ardebil, Iran
** Corresponding Email: vaziri129@yahoo.com*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-29]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.5.42]