

## بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم rs4938723 در ژن mir-34 b/c و خطر ابتلا به نا باروری آیدیو پاتیک در مردان

هاجر مجیدی<sup>۱</sup> ، لیلا کهن<sup>(۲)\*</sup> ، اطهر راسخ جهرمی<sup>۳</sup>

- (۱) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد ارسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، ارسنجان، ایران  
 (۲) باشگاه پژوهشگران بیوان و نسبکان، واحد ارسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، ارسنجان، ایران  
 (۳) گروه زنان و زایمان، دانشکده علوم پزشکی بهرج، بهرج، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۵/۴/۱۲

تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۱۵

### چکیده

**مقدمه:** نا باروری، اختلال پیچیده‌ای است که با علل متعدد ژنتیکی و محیطی همراه می‌باشد. نا باروری مردان، تقریباً ۱۵ درصد از زوجین را در گیر می‌کند. میکرو RNAها نقش مهمی در فرایند اسپرماتوزنر دارند؛ اما این که آیا پلی مورفیسم‌های pre-miRNA با نا باروری آیدیو پاتیک مردان همراه هستند، هنوز نا مشخص باقی مانده است. در این مطالعه، ارتباط بین پلی مورفیسم rs4938723 در ژن mir-34 b/c و خطر ابتلا به نا باروری آیدیو پاتیک در مردان، مورد بررسی قرار گرفت.

**مواد و روش ها:** نمونه های خون از ۲۴۴ مرد مبتلا به نا باروری آیدیو پاتیک و ۱۰۵ مرد سالم جمع آوری شد. استخراج DNA با روش Salting out انجام شد و تعیین ژنتیپ به وسیله تکنیک Tetra ARMS PCR صورت گرفت. هم چنین، مقایسه فراوانی ژنتیپی و آلی در دو گروه بیمار و کنترل به وسیله آزمون رگرسیون لوگستیک انجام پذیرفت.

**یافته های پژوهش:** هر دو گروه بیمار ( $\chi^2=1/8$ ,  $P=0.17$ ,  $df=2$ ) و کنترل ( $\chi^2=1/6$ ,  $P=0.2$ ,  $df=2$ ) برای توزیع ژنتیپ ها در تعادل هاردی- واینبرگ بودند. در مدل ژنتیک مغلوب برای ژنتیپ CC، پلی مورفیسم rs4938723 در ژن mir-34 b/c ارتباط معنی داری را با نا باروری آیدیو پاتیک در مردان نشان داد ( $OR=0.44$ ,  $95\% CI=0.2-0.9$ ,  $P=0.03$ ).

**بحث و نتیجه گیری:** در این مطالعه برای اولین بار، ارتباط بین پلی مورفیسم rs4938723 با نا باروری آیدیو پاتیک مردان بررسی شد. نتایج نشان داد که پلی مورفیسم rs4938723 با نا باروری آیدیو پاتیک مردان در ارتباط است؛ اگر چه به منظور تایید این نتایج، باید مطالعات گسترده تری با افراد کنترل و بیمار بیشتر صورت گیرد.

**واژه های کلیدی:** نا باروری مردان، mir-34 b/c، پلی مورفیسم، آیدیو پاتیک

\* نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی، واحد ارسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، ارسنجان، ایران

Email: [Kohan@iaua.ac.ir](mailto:Kohan@iaua.ac.ir)

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.

## مقدمه

پلی مورفیسم های متعددی در ژن miR-34b/c گزارش شده است که برخی از این پلی مورفیسمها می توانند با تاثیر بر بیان، تکامل و یا عملکرد این میکرو RNA، بر فعالیت تنظیمی آن موثر باشند. پلی مورفیسم rs4938723 در ژن miR-34b/c منجر به جایگزینی C به جای T می شود (T>C)، که این تغییر نوکلئوتیدی در جایگاه پرموتر رخ می دهد(۱۲).

در این تحقیق با توجه به اهمیت عملکردی miRNA در فرآیند اسپرماتوژن، به بررسی اثر واریانت ژنتیکی mir-34b/c rs4938723 بر نا باروری آیدیو پاتیک مردان پرداخته شده است. به نظر می رسد تا این زمان در این درباره مطالعه ای صورت نگرفته است و تحقیق حاضر برای نخستین بار به بررسی این ارتباط می پردازد.

## مواد و روش ها

این تحقیق از نوع مورد- شاهدی (case-control) بوده که در آن ۳۴۹ مرد (شامل ۲۴۴ مرد مبتلا به نا باروری آیدیو پاتیک که بیماری آن ها توسط پزشک متخصص تأیید شده و ۱۰۵ مرد سالم به عنوان گروه شاهد)، مورد مطالعه قرار گرفتند. افراد گروه کنترل و بیمار از لحاظ سن ( $\pm 5$  سال) همسان سازی شدند. گروه کنترل شامل مردانی بودند که حداقل یک فرزند داشته و پزشک متخصص عدم وجود هر گونه اختلال مربوط به باروری را در آن ها تأیید کرده بود. معیار های خروج از مطالعه عبارت بودند از: واریکوسل، عفونت دستگاه تناسلی، مصرف دارو، نا هنجاری کروموزومی و ریز حذف های کروموزوم Y. به منظور تعیین ژنتیک پس از اخذ رضایت آگاهانه، از افراد مورد مطالعه ۵ سی سی خون گرفته شد و درون تیوب های حاوی EDTA منتقل گردید. نمونه های جمع آوری شده به همراه پرسشنامه ای که مشخصات افراد را نشان می داد، به آزمایشگاه منتقل شده و نمونه ها در دمای  $-20^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی گراد نگه داری شدند.

استخراج DNA از خون محیطی به کمک روش انجام گرفت و سپس با استفاده از تکنیک salting out و پرایمر های اختصاصی که با

نا باروری به حالت اطلاق می شود که زوجین پس از یک سال مقاربت های متوالی، منظم و بدون استفاده از روش های پیشگیری، با عدم موفقیت مواجه می شوند(۱). نا باروری، یکی از مشکلات عدیده پزشکی در دنیای امروز است؛ به گونه ای که میزان آن در جهان از سال ۱۹۵۵ تاکنون  $50\%$  افزایش یافته است و هم اکنون  $15\%-10\%$  زوجین از این مشکل رنج می برند(۲). در جوامع بشری تقریباً در نیمی از موارد نا باروری به نحوی عامل مردانه دخیل است(۳). با وجود تلاش های صورت گرفته در یافتن دقیق طبیعت نا باروری در مردان، بیشتر مردان مبتلا به نا باروری با منشا ناشناخته (آیدیو پاتیک) هستند. پیشنهاد شده است که این نوع نا باروری می تواند حاصل جهش ها و یا تغییرات دیگر در ژن های در گیر در اسپرماتوژن باشد(۴). میکرو RNA ها (miRNA) زیر گروه بزرگی از RNA های غیر کد کننده ۱۸ تا ۲۵ نوکلئوتیدی هستند که از نظر تکاملی حفاظت شده می باشند(۵). این RNA های کوچک غیر کد کننده، تنظیم بیان ژن ها را در سطح پس از رونویسی انجام می دهند. این تنظیم، با تجزیه و یا با جلوگیری از ترجمه mRNA هدف صورت می گیرد(۶). حضور miRNA در بیشه در سال ۲۰۰۴ تایید شد(۷). پس از آن محققان بر یافتن نقش عملکردی miRNA درون سیستم تولید مثل تمرکز miRNA ها علاوه بر این که درون سلول ها وجود دارند، در مایعات خارج سلولی از جمله پلاسما، بزاق، خون قاعدگی، ترشحات واژینال و منی نیز گزارش شده اند(۹). miR-34 متعلق به یک خانواده از miRNA های حفاظت شده در طی تکامل است که دارای سه عضو 34c و 34b، 34a می باشد و بیان آن ها توسط تومور ساپرسور P53 تنظیم می شود(۱۰). بیان بالای mir-34c در سلول های زایای کشت داده شده، باعث آپوپتوز می شود. در بسیاری از سلول های سلطانی، mir-34c یک ژن پرو آپوپتیک است که به وسیله P53 تنظیم می شود. در بیشه ای موش ها، mir-34c تا حد زیادی مستقل از P53 است و در اواخر اسپرماتوژن دخالت دارد(۱۱).

ارتباط بین ریسک فاکتور های مختلف و استعداد ابتلا به نا باروری با استفاده از آنالیز آماری رگرسیون لوگستیک و محاسبه OR با فاصله اطمینان ۹۵٪ انجام شد. در آنالیز آماری  $P < 0.05$  به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد. هم چنین مقایسه میانگین ها با استفاده از t-test به وسیله نرم افزار SPSS ویراست ۱۷، مورد بررسی قرار گرفت.

### یافته های پژوهش

damنه سنی کل افراد مورد مطالعه در این تحقیق، ۵۸-۲۲ سال و میانگین سنی آن ها  $35.6 \pm 7.4$  بود. میانگین سنی افراد در گروه بیمار  $35.1 \pm 7.1$  و در گروه کنترل  $36.7 \pm 7.9$  بود؛ مقایسه میانگین سنی در دو گروه سالم و بیمار نشان داد که اختلاف آماری معنی داری بین میانگین سن دو گروه وجود ندارد ( $P = 0.07$ ).

استفاده از نرم افزار Oligo 7 طراحی شده بود (جدول ۱)، قسمتی از ژن b/c mir34 تکثیر شد. واکنش PCR در حجم نهایی ۱۲/۵ میکرو لیتر شامل ۰/۵ میلی مولار از  $MgCl_2$ ، ۱۰ پیکومول از پرایمر های RI و FO، ۵ پیکو مول از پرایمر های FI و Taq DNA ۰/۲۵ میلی مولار از dNTP ۱/۵ واحد از polymerase ۱ میکرو لیتر از DNA برناهه PCR به صورت یک مرحله دناتوراسیون اولیه، ۳۵ درجه سانتی گراد برای مدت ۵ دقیقه و در ادامه ۳۵ چرخه شامل دناتوراسیون ۹۵ درجه سانتی گراد برای مدت ۴۵ ثانیه، اتصال پرایمر ۶۲ درجه سانتی گراد برای مدت ۴۵ ثانیه، دمای ۷۲ درجه سانتی گراد برای مدت ۳۰ ثانیه به منظور گسترش انجام شد. این مرحله با ۱ سیکل شامل ۷۲ درجه سانتی گراد برای مدت ۱۰ دقیقه به منظور طویل سازی نهایی دنبال شد. به منظور تعیین ژنتیپ از الکتروفورز و دستگاه تصویر برداری از ژل (Gel Documentation)، استفاده گردید.

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده جهت انجام Tetra - ARMS PCR

پلی مورفیسم	پرایمر	توالی (۵' به ۳')
MiR-34b/c rs3735590	FI	CTCTGGGAACCTTCTTGACCTCTC
	RI	GAGGTCCCTCAATGAGAGCTTTA
	FO	GGAATCAATCTATAAGGTGGGAAGT
	RO	CCTGGGCCTCTAGTCAAATAGT

مجموع تحرک اسperm، غلظت اسperm و نا باروری وجود دارد ( $P < 0.05$ ). بین سایر پارامتر های مایع منی و نا باروری ارتباط معنی داری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ).

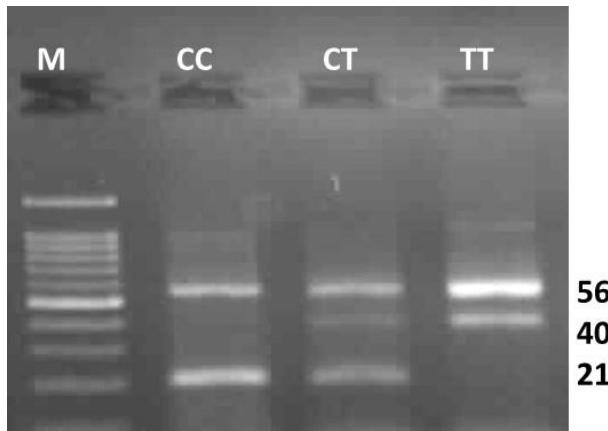
جدول ۲، بررسی پارامتر های مایع منی را در دو گروه کنترل و بیمار نشان می دهد. نتایج این مطالعه نشان داد که ارتباط معنی داری بین تعداد کل اسperm ها،

جدول ۲. بررسی پارامتر های مایع منی در افراد کنترل و بیمار

پارامترهای مایع منی	کنترل	بیمار	P
Semen volume	$24.9 \pm 3.6$	$25.5 \pm 4.4$	.0.2
Sperm morphology (Normal Form%)	$46.5 \pm 22.8$	$42.5 \pm 25.7$	.0.58
Total sperm number ( $10^6$ per ejaculate)	$130 \pm 133$	$95 \pm 130$	.0.04
Progressive motility(PR,%)	$60.2 \pm 45$	$52.3 \pm 52.7$	.0.39
Vitality (Live sperm,%)	$40.9 \pm 24$	$41.7 \pm 33$	.0.82
Total motility (PR+NP,%)	$47.3 \pm 16.8$	$32.6 \pm 22$	<.0.001
Sperm concentration ( $10^6$ per ml)	$75.9 \pm 44.4$	$45.1 \pm 45.8$	<.0.001

آلل C، قطعه ۲۱۱bp و کنترل داخلی، قطعه ۵۶۶bp را روی ژل آگارز ۲٪ نشان دادند.

نتایج حاصل از تعیین ژنوتیپ های پلی مورفیسم rs4938723 در ژن mir-34 b/c در شکل ۱ آمده است. پس از الکتروفورز نمونه ها آلل T، قطعه ۴۰۱bp،



شکل ۱. بررسی پلی مورفیسم rs4938723 در ژن mir-34 b/c با استفاده از تکنیک Tetra ARMS PCR

غالب و مغلوب مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۳). نتایج بیانگر این بود که ژنوتیپ CC در مدل مغلوب (مقایسه ژنوتیپ CC در مقابل CT+TT) با کاهش خطر ابتلا به نا باروری همراه می باشد ( $P=0.03$ ,  $OR=0.44$ ,  $CI=0.2$ - $0.9$ ) (OR=۰/۰۳، CI=۰/۰۹-۰/۴۴).

بررسی توزیع ژنوتیپ ها در دو گروه کنترل ( $P=0.2$ ) ( $\chi^2=1/8$ ,  $df=2$ ) و بیمار ( $P=0.17$ ,  $\chi^2=1/6$ ,  $df=2$ ) انحرافی را از تعادل هاردی-واینبرگ نشان نداد. ارتباط ژنوتیپ های پلی مورفیسم rs4938723 ژن mir-34 b/c و ابتلا به نا باروری، در سه مدل ژنتیکی هم بازre،

جدول ۳. ارتباط بین پلی مورفیسم rs4938723 ژن b/c mir-34 و ابتلا به نا باروری

ژنوتیپ	کنترل (%)	بیمار (%)	OR(%95CI)	P
هم باز				
TT	۴۷(۴۴/۸)	۱۱۴(۴۶/۷)	۱	-
CT	۴۲(۴۰)	۱۱۲(۴۵/۹)	۱/۱(۰/۷-۱/۸)	.۷
CC	۱۶(۱۵/۲)	۱۸(۷/۹)	۰/۴۶(۰/۲-۱)	.۰۴۶
غالب				
TT	۴۷(۴۴/۸)	۱۱۴(۴۶/۷)	۱	-
CT+CC	۵۸(۵۵/۲)	۱۳۰(۵۳/۳)	۰/۹۲(۰/۵۸-۱/۵)	.۷
مغلوب				
TT+CT	۸۹(۸۴/۸)	۲۲۶(۹۲/۶)	۱	-
CC	۱۶(۱۵/۲)	۱۸(۷/۴)	۰/۴۴(۰/۲-۰/۹)	.۰۰۳
آلل				
T	۱۳۶	۳۴۰	۱	-
C	۷۴	۱۴۸	۰/۸(۰/۶-۱/۱)	.۲

از مسائل مهم زوج هاست و این امر از آن نظر قابل توجه است که علت نا باروری مردان فقط در ۴۰ درصد موارد قبل تشخیص است و در ۶۰ درصد موارد از نظر پاتولوژیکی قابل تشخیص نیستند. بنابراین درمان نا باروری در مردان مشکل تر از زنان است؛ به خصوص در کشور های در حال توسعه که با توجه به هزینه بالای

## بحث و نتیجه گیری

در حدود ۸-۱۲ درصد از زوج ها بدون فرزند هستند که تقریباً ۳۵ درصد از نا باروری آنان فقط مربوط به مرد می شود و در ۲۵ درصد موارد علاوه بر مردان، زنان نیز نقش دارند و زوج ها هر دو نا بارور هستند. نا باروری و مشکلات فردی و اجتماعی ناشی از آن به عنوان یکی

miR-34b/c از CT/CC کاهش خطر ابتلا به سرطان معده همراه هستند، در حالی که هیچ ارتباط معنی‌داری بین TP53 و خطر ابتلا به سرطان معده مشاهده نکردند(۱۷). نتایج حاصل از مطالعات نشان می‌دهد که سطح بیان mir-34 b/c در افراد مبتلا به نا باروری کاهش می‌باید(۱۹) و به دنبال آن، تمایز، بقا و آپیتوز را در فرآیند اسپرماتوژن مختلف می‌کند که این امر زمینه را برای ایجاد نا باروری فراهم می‌نماید (۱۴،۲۰). در نتیجه، تحقیق حاضر به بررسی اثر پلی‌مورفیسم rs4938723 در مطالعه حاضر، اثر پلی‌مورفیسم mir-34 b/c بر ابتلا به نا باروری آیدیو پاتیک در مردان، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مطالعه نشان داد ژنوتیپ CC در مدل ژنتیکی غالب اثر حفاظتی بر ابتلا به نا باروری دارد ( $P=0.03$ ). نتایج حاصل از مطالعات نشان می‌دهد که سه عضو خانواده miR-34 در کنترل منفی چرخه سلولی از جمله توقف چرخه سلولی، پیری سلولی و القای آپیتوز نقش دارند(۱۰).

rs4938723 پاتیک در مردان پرداخت؛ نتایج نشان داد که ژنوتیپ CC با کاهش خطر ابتلا به نا باروری همراه می‌باشد و به نظر می‌رسد که ژنوتیپ CC در حالت مغلوب اثر حفاظتی بر بیماری دارد. با توجه به جستجو در سایت-های معتبر علمی، به نظر می‌رسد که تحقیق حاضر، اولین مطالعه در ارتباط با اثر پلی‌مورفیسم rs4938723 در مردان باشد. بنا بر این، پیشنهاد می‌گردد که این مطالعه در سطح وسیع‌تر و در قومیت‌های نژادی مختلف نیز صورت گرفته تا نتایج این تحقیق توسط دیگر محققین نیز، تائید گردد.

### سباسگزاری:

این مقاله مستخرج از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد می‌باشد. بدینوسیله از همکاری کارشناسان محترم آزمایشگاه ژنتیک سرکار خانم ها نسیبه جعفری و نجمه نوروزی و هم چنین کلیه افراد شرکت کننده در تحقیق تشکر و قدردانی می‌شود.

### References:

1. Stevenson EL, Hershberger PE, Bergh PA. Evidence based care for couples with infertility. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs* 2016; 45:100-10.
2. Oliva A, Spira A, Multigner L. Contribution of environmental factors to the risk of male infertility. *Hum Reprod* 2001; 16:1768-76.
3. Ferlin A, Arredi B, Foresta C. Genetic causes of male infertility. *Reprod Toxicol* 2006; 22:133-41.
4. Baazeem A, Belzile E, Ciampi A, Dohle G, Jarvi K, Salonia A, et al. Varicocele and male factor infertility treatment a new meta-analysis and review of the role of

درمان، امکان انجام آن کم تر است(۱۳). بنا بر این تشخیص عوامل ژنتیکی که در مستعد کردن افراد به نا باروری نقش دارند، می‌تواند، نقش موثری در فهم بهتر اتیولوژی این عارضه داشته باشد.

در مطالعه حاضر، اثر پلی‌مورفیسم rs4938723 در ژن mir-34 b/c بر ابتلا به نا باروری آیدیو پاتیک در مردان، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مطالعه نشان داد ژنوتیپ CC در مدل ژنتیکی غالب اثر حفاظتی بر ابتلا به نا باروری دارد ( $P=0.03$ ). نتایج حاصل از مطالعات نشان می‌دهد که سه عضو خانواده miR-34 در کنترل منفی چرخه سلولی از جمله توقف چرخه سلولی، پیری سلولی و القای آپیتوز نقش دارند(۱۰).

Mir34 b/c با متصل شدن به NOTCH1 و DAZL باعث تمایز و بقا سلول‌های ژرمینال شده و با اتصال به مولکول‌های ATF1 و bcl2 باعث آپیتوز سلول‌های زایا در روند اسپرماتوژن می‌شود(۱۴). Molkol ویژه‌ای است که به دلیل این که بیان بالایی در اسپرماتوژنیت و اسپرماتید دارد، به نظر می‌رسد برای مراحل آخر اسپرماتوژن مهم باشد (۱۵،۱۶). در سال ۲۰۱۴ Yang و همکاران پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی 34C (T > C) در منطقه پرومومتر miR-34b/c که درون جزایر CPG است، را بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که این جایگزینی فاکتور رونویسی GATA-X را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱۷)، در نتیجه بیان بسیاری از ژن‌های مربوط به تمایز تومور و سرطان تحت تاثیر قرار می‌گیرد(۱۸). این گروه تحقیقاتی، برای اولین بار به ارتباط بین TP53 و پلی‌مورفیسم miR-34b/c rs4938723 Arg72Pro و خطر ابتلا به سرطان معده در جمعیت چینی پرداختند. آن‌ها دریافتند که افراد با ژنوتیپ

- varicocele repair. Eur Urol 2011; 60:796-808.
5. Carissimi C, Fulci V, Macino G. Micro RNAs novel regulators of immunity. Autoimmun Rev 2009; 8:520-24.
  6. Bartel DP. Micro RNAs target recognition and regulatory functions. Cell 2009; 136: 215-33.
  7. Barad O, Meiri E, Avniel A, Aharonov R, Barzilai A, Bentwich I, et al. Micro RNA expression detected by oligonucleotide microarrays system establishment and expression profiling in human tissues. Genome Res 2004; 14:2486-94.
  8. Papaioannou MD, Nef S. Micro RNAs in the testis: building up male fertility. J Androl 2010; 31: 26-33.
  9. Hanson EK, Lubenow H, Ballantyne J. Identification of forensically relevant body fluids using a panel of differentially expressed micro RNAs. Anal Biochem 2009; 387: 303-14.
  10. Corney DC, Fleskennikitin A, Godwin AK, Wang W, Nikitin AY. Micro RNA-34b and micro RNA-34c are targets of p53 and cooperate in control of cell proliferation and adhesion independent growth. Cancer Res 2007; 67: 8433-38.
  11. Kotaja N. Micro RNAs and spermatogenesis. Fertil Steril 2014; 101: 150-8.
  12. Yang X, Liu L, Liu J, Zhang Y, Zhu J, Chen J, et al. A potentially functional polymorphism in the promoter region of miR-34b/c is associated with an increased risk for primary hepatocellular carcinoma. Int J Cancer 2011; 128:412-7.
  13. Bayasgalan G, Naranbat D, Radnaabazar J, Lhagvasuren T, Rowe PJ. Male infertility risk factors in Mongolian men. Asian J Androl 2004; 6:305-11.
  14. Liang X, Zhou D, Wei C, Luo H, Liu J, Fu R, et al. Micro RNA-34c enhances murine male germ cell apoptosis through targeting ATF1. PLoS One 2012; 7: 33861.
  15. Comazzetto S, Giacomo M, Rasmussen KD, Much C, Azzi C, Perlas E, et al. Oligo astheno teratozoo spermia and infertility in Mice deficient for miR-34b/c and miR-449 loci. PLoS Genet 2014;10: 1004597.
  16. Bouhallier F, Allioli N, Lavial F, Chalmel F, Perrard MH, Durand P, et al. Role of miR-34c microRNA in the late steps of spermatogenesis. RNA 2010;16:720-31.
  17. Yang C, Xiang M, Liu D, Wang Y, Tang R, Zhu Y, et al. Promoter polymorphisms of miR-34b/c are associated with risk of gastric cancer in a Chinese population. Res Article 2014;35:12545-554.
  18. Vineeth VS, Malini S. a journey on Y chromosomal genes and Male Infertility. Int J Hum Genet 2011; 11: 203-15.
  19. Song R, Walentek P, Sponer N, Klimke A, Lee JS, Dixon G, et al. MiR-34/449 miRNAs are required for motile ciliogenesis by repressing cp110. Nature 2014; 510:115-20.
  20. Chang TC, Wentzel EA, Kent OA, Ramachandran K, Mullendore M, Lee KH, et al. Transactivation of miR-34a by p53 broadly influences gene expression and promotes apoptosis. Mol Cell 2007; 26:745-52.

## Association between Mir-34 b/c rs4938723 Gene Polymorphism and the Risk of Male Infertility

Majidi H<sup>1</sup>, Kohan L<sup>1, 2</sup>, Rasekh A<sup>3</sup>

(Received: May 4, 2016 Accepted: July 2, 2016)

### Abstract

**Introduction:** Infertility is a complex disorder with multiple genetic and environmental causes. Male factor infertility affects 15% of all couples. MicroRNA plays an important role in spermatogenesis. Whether pre-miRNAs polymorphisms are associated with idiopathic male infertility is unknown. In this study, the association between mir-34 b/c rs4938723 gene polymorphism and the risk of idiopathic male infertility was investigated.

**Materials & methods:** Blood Samples were collected from 244 patients diagnosed with idiopathic male infertility and 105 control subjects. DNA extraction was performed by salting out method and genotype determination was done by Tetra-ARMS PCR technique. However, the comparison between genotype and allele frequencies in cases and controls, were assessed by logistic regression analysis.

**Findings:** Both of the cases ( $\chi^2= 1.8$ , df=2, P=0.17) and control ( $\chi^2= 1.6$ , df=2, P=0.2) groups were in Hardy-Weinberg equilibrium for genotype distribution. In a recessive genetic model for CC genotype, mir-34 b/c rs4938723 showed significant association with idiopathic male infertility (OR= 0.44, 95% CI= 0.2-0.9, P= 0.03).

**Discussion & conclusions:** In this study, for the first time, the association between mir-34 b/c rs4938723 and idiopathic male infertility was investigated. The results showed that mir-34 b/c rs4938723 polymorphism is associated with idiopathic male infertility; more studies should be considered with larger number of patient and control subjects to confirm these results.

**Keywords:** Male infertility, Mir-34 b/c, Polymorphism, Idiopathic

1. Dept of Biology, Faculty of Science, Arsanjan branch, Islamic Azad University, Arsanjan, Iran

2. Young researchers and elite club, Arsanjan Branch, Islamic Azad University, Arsanjan, Iran

3. Dept of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Jahrom University of Medical Sciences, Jahrom, Iran

\* Corresponding author Email: Kohan@iaua.ac.ir