فصلنامه (علمی)

زیست شناسی تکوینی

سال شانزدهم، شماره ۱، زمستان ۱۴۰۲ ص. ۱۲۵-۱۱۳

مقاله پژوهشی

ارتباط پلی‌مورفیسم‌های T886C در ژن *TAS2R38* وC109869T در ژن *SLC6A14* با ناباروری ادیوپاتیک مردان ایرانی

الهام سیاسی[۱*]، احمد ال یاسین[۲]، جواد مولا[۳]

[۱] گروه ژنتیک، دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
[۲] گروه ژنتیک پزشکی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران.
[۳] گروه ژنتیک مولکولی، دانشکده علوم زیستی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

[*] (نویسنده مسئول مکاتبات): emi_biotech2006@yahoo.ca

تاریخ دریافت: مرداد ۱۴۰۱ تاریخ پذیرش: اسفند ۱۴۰۱

https://doi.org/10.30495/jdb.2023.1963938.1321

چکیده

میزان شیوع ناباروری در مردان ۱۵-۱۰ درصد است و برای حدود ۵۰% موارد ناباروری مردان نمی‌توان علت خاصی یافت. این وضعیت به عنوان ناباروری ایدیوپاتیك نامیده می‌شود و یکی از علل ناباروری ادیوپاتیک در مردان عوامل ژنتیکی می‌باشد. بنابراین هدف این تحقیق بررسی ارتباط بین دو پلی‌مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38* وC109869T در ژن *SLC6A14* با ناباروری ادیوپاتیک مردان در جمعیتی از بیماران ایرانی بود. در این تحقیق از ۲۰۰ نمونه خون، شامل گروه بیمار که ۱۰۰ مرد با نابابروری ادیوپاتیک (الیگواسپرم و ازواسپرم) و ۱۰۰ نفر گروه کنترل بودند استخراج DNA، انجام گرفت. ژنوتایپینگ دو پلی‌مورفیسم مورد مطالعه، با استفاده از روش‌های مولکولی HRM-PCR Corbett ، PCR-RFLP و Sequencing انجام گرفت، سپس نتایج انالیز اماری شد. برای پلی‌مورفیسمT886C در ژن *TAS2R38* تفاوت معنی‌دار بین گروه بیماران و گروه کنترل مشاهده نشد [P=0.9] و نتایج نشان داد که بین این پلی‌مورفیسم با جمعیت مردان نابارور ایرانی ارتباطی وجود ندارد. فراوانی پلی‌مورفیسم C109869T در ژن *SLC6A14* دارای تفاوت معنی‌دار بین گروه بیمار و کنترل بود [P=0.04] و با ناباروری آدیوپاتیک در جمعیت مردان ایرانی مورد مطالعه ارتباط معنی‌دار نشان داد. بنابر نتایج این مطالعه، پلی‌مورفیسم C109869Tدر ژن *SLC6A14* در ایجاد ناباروری آدیوپاتیک در جمعیت مردان ایرانی موثر است و می‌تواند با ایجاد اولیگواسپرمی و آزواسپرمی، سبب ناباروری در مردان ایرانی گردد. برای تایید نتایج مطالعات در نمونه‌های بیشتر توصیه می‌گردد.

کلیدواژه‌ها: ناباروری ادیوپاتیک مردان، پلی‌مورفیسم، HRM-PCR Corbett، PCR-RFLP، Sequencing.

مقدمه

ناباروری از دیدگاه کلینیکی به مفهوم ناتوانی در بارداری بعد از ۱۲ ماه آمیزش طبیعی بدون استفاده از وسائل جلوگیری کننده از بارداری می‌باشد و تقریبا از هر شش زوج یک زوج به این مشکل دچار هستند [۱ و۶ و۱۹ و ۲۳]. در حدود ۵۰ درصد از موارد به دلیل ناباروری در مردان[1] است و در نیمی از موارد ناباروری مردان به طور کامل و یا تا حدود زیادی به دلیل ناهنجاری و اختلال در اسپرماتوژنز و تشکیل اسپرم بالغ و نرمال است که باعث می‌شود ناباروری مردان به عنوان یکی از شایع ترین علل ناباروری زوجین مطرح باشد [۱ و ۷ و ۲۳ و ۲۶]. عوامل ژنتیکی شامل ناهنجاری‌های کرموزومی و جهش‌های تك ژنی در کنار عادات سبک زندگی و چاقی، علل پاتوژن ناباروری همچون واریکوسل، عوامل محیطی همچون در معرض پرتو بودن و اکسیداتیو استرس، همچنین عوامل عفونت زای ویروسی همچون کوید ۱۹، از جمله علل ناباروری مردان می‌باشند [۲ و ۴ و ۷ و ۹ و ۱۰ و ۱۱ و ۱۲ و ۱۴ و ۱۹]. برای حدود ۵۰% موارد ناباروری مردان نمی‌توان علت خاصی یافت و این وضعیت به عنوان ناباروری ایدیوپاتیك نامیده می‌شود. در این گروه از مردان تغییر در پارامترهای اسپرم وجود دارند مانند کاهش تعداد اسپرم، کاهش حرکت و ناهنجاری‌های شکلی. تکامل و بلوغ اسپرم و قدرت باروری تخمک [۴ و ۶ و ۱۹ و ۲۰]. بر اساس تحقیقات اخیر تشخیص این علل ایدیوپاتیک، بنا بر اهمیت شناسایی علل ناشناخته مورد بررسی قرار گرفته است و مشخص شده است که، یکی از علل ناباروری ادیوپاتیک می‌تواند حضور پلی‌مورفیسم‌ها و جهش‌ها در ژن‌های موثر در روند اسپرماتوژنز باشد و از میان این پلی‌مورفیسم‌ها دو پلی‌مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38* (*Taste receptor, type 2, member 38 gene*) و C109869T در ژن *SLC6A14* (*Solute carrier family 6, member 14 gene*) که با ایجاد آزواسپرمی و اولیگواسپرمی در ناباروری مردان بطور معنی داری ارتباط دارند، مورد بررسی قرار گرفته‌اند [۳ و ۵ و ۱۳ و ۱۶ و ۱۸ و ۲۲ و ۲۷]. ژن *TAS2R38* یک رسپتور حس چشایی می‌باشد که روی کروموزوم ۷ قرارگرفته است. این ژن یک رسپتوری را کد می‌کند که می‌تواند طعم گلوکوزینولات‌ها را که ترکیباتی گیاهی هستند، تشخیص دهد. تغییرات ژنتیکی در این ژن سبب تغییر اسید آمینه‌های این رسپتور شده (اسیدآمینه لوسین به والین) و در نتیجه عدم توانایی تشخیص طعم فنیل تیوکربامین را باعث می‌شود. بر اساس تحقیقات گذشته مشخص گردیده که پلی‌مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38* بطور اختصاصی با ایجاد ازواسپرمی و در نهایت ناباروری در مردان ارتباط دارد. گرچه هیچ یک از این رسپتورها مستقیما روی اسپرماتوژنز تاثیر ندارند اما نشان داده شده که این پروتئین برروی رسپتورهای بیضه اثر دارند و سبب اولیگواسپرمی و آزواسپرمی در مردان نابارور می‌گردند [۳ و ۵ و ۱۳ و ۱۶]. پلی‌مورفیسم دیگر در ژن *SLC6A14*، است این ژن پروتئینی کد می‌کند که در انتقال اسید آمینه‌ها با ناقلین سدیم-کلراید همکاری می‌نماید. در حقیقت یک سیستم انتقال عصبی است که اسید آمینه‌های با بار الکتریکی خنثی و مثبت را از غشا عبور می‌دهد و روی کروموزوم X قرار دارد. بر اساس تحقیقات انجام شده مشخص گردیده است که، وجود پلی‌مورفیسم‌های ی در این ژن می‌تواند سبب ایجاد بیماری‌های ی مختلفی گردد [۵ و ۱۷ و ۱۸ و ۲۲ و ۲۵]. از جمله این موارد، حضور پلی‌مورفیسم C109869T در ژن *SLC6A14* می‌تواند با ایجاد فنوتیپ اولیگواسپرمی، سبب ناباروری مردان گردد [۳ و ۵ و۱۸ و ۲۲]. بنابراین با توجه به لزوم تشخیص علل ناشناخته‌ایی که می‌توانند با بروز ناباروری در جمعیت‌های مردان در مناطق مختلف جغرافیایی مرتبط باشند، در تحقیق حاضر به بررسی ارتباط دو پلی‌مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38* و C109869T در ژن *SLC6A14* با ناباروری جمعیتی از مردان ایرانی برای اولین بار پرداخته شد و ۱۰۰ نفر از هر یک از گروه بیمار با ناباروری ادیوپاتیک (دارای آزواسپرمی و اولیگو اسپرمی) و ۱۰۰ نفر گروه کنترل (مردان بارور و دارای فرزند) مورد بررسی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های مورد مطالعه

در این تحقیق دو گروه بیمار و کنترل که شامل ۱۰۰ مرد نابارور و ۱۰۰ مرد سالم بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. این مردان جهت درمان ناباروری به مرکز ناباروری مراجعه نموده بودند. این افراد با نظر پزشک متخصص انتخاب شدند و دارای نقص در روند

[1] Male infertility

اسپرماتوژنزیز و نابارور بودند. پس از ازمایشات و بررسی‌های کلینیکی این افراد شامل دو زیر گروه، آزواسپرم (فاقد اسپرم) به تعداد ۸۰ نفر و اولیگو اسپرم (دارای کمتر از پنج میلیون سلول اسپرم در میلی لیتر) به تعداد ۲۰ نفر، بعنوان گروه بیمار مشخص شدند. انتخاب این افراد توسط پزشک متخصص اورولوژی و با انجام یک سری آزمایشات اندرولوژی شامل بررسی تاریخچه پزشکی، معاینات فیزیکی، آنالیز مایع سیمن، آنالیز هورمونی برای میزان LH, FSH، بررسی کاریوتایپ بیماران و در برخی موارد بیوپسی بیضه صورت گرفت. از بین مردان نابارور، بیمارانی که با ناباروری ادیوپاتیک (ناباروری به دلایل علل ناشناخته ژنتیکی) تشخیص داده شدند، انتخاب شدند. این افراد در گروه سنی ۳۰-۴۵ سال قرار داشتند. گروه کنترل شامل ۱۰۰ نفراز آقایان بارور سالم و دارای فرزند بود، که درگروه سنی مشابه قرار داشتند و از نظر پارامترهای فیزیولوژی و ساختمانی و نتایج کاریو تایپینگ دارای حالت نرمال بودند. نمونه گیری از هر دو گروه با کسب رضایتنامه انجام پذیرفت.

استخراج DNA و کنترل کمی و کیفی آن

از دو گروه بیمار و کنترل، ۵ میلی لیتر خون محیطی در فالکون‌های حاوی ۵۰۰ میکرولیتر محلول آنتی کوالانت EDTA (۲۰ میلی مولار با PH=8 و میزان ۱۰۰میکرولیتر به ازاء هر یک میلی لیتر خون محیطی) اخذ گردید. نمونه‌ها در تا زمان استخراج DNA در دمای $-20^{\circ}C$ نگهداری شدند. استخراج DNA با روش معمول استخراج نمکی DNA انجام گرفت [۲۴] برای اطمینان از صحت DNA استخراج شده الکتروفورز روی ژل ۱/۵ % و بررسی با نانوداپ (مدل Analytic Jena و کشور سازنده المان) و نسبت بین میزان جذب نوری ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر انجام پذیرفت.

بررسی حضور دو پلی‌مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38* و C109869T در ژن *SLC6A14*

با دو روش PCR-RFLP و HRM-PCR Corbett انجام گرفت.

روش PCR-RFLP

برای بررسی حضور پلی‌مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38* و C109869T در ژن *SLC6A14*، تکثیر دو ژن با پرایمرهای اختصاصی (طراحی شده با برنامه DNAsisMax) انجام شد. سپس برای پلی‌مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38*، از اثر انزیم محدودالاثر BseGI بر محصولات PCR این پلی‌مورفیسم و برای بررسی حضور پلی‌مورفیسم C109869T در ژن *SLC6A14* از تاثیر انزیم محدودالاثر TaqI بر محصولات PCR این پلی‌مورفیسم استفاده شد. مشخصات پرایمرها، مواد مورد استفاده، برنامه دستگاه PCR (مدل BioRad و کشور سازنده آمریکا) و همچنین مشخصات قطعات حاصل از برش انزیمی با انزیم‌های محدودالاثر بترتیب در جداول ۱ و ۲ و ۳ و ۴ اورده شده است.

روش HRM-PCR Corbett

برای بررسی حضور پلی‌مورفیسم T886C در ژن TAS2R38 و C109869T در ژن SLC6A14 در این روش، تکثیر پلی‌مورفیسم مورد نظر با استفاده از همان پرایمرهای اختصاصی که برای روشPCR-RFLP طراحی شده بود (جدول ۱) و دستگاه HRM-PCR Corbett (مدل Mic QPCR و کشور سازنده استرالیا) انجام گرفت. سپس با انالیز محصولات PCR و مقایسه نمونه‌های کنترل با هریک از نمونه‌های ژنوتایپ هموزیگوت غالب و مغلوب و هتروزیگوت برای این پلی‌مورفیسم‌ها در گروه بیمار و افراد سالم بررسی شد. مشخصات مواد مورد استفاده و برنامه دستگاه HRM-PCR Corbett بترتیب در جداول ۵ و ۶ اورده شده است.

آنالیز آماری

برای آزمون معنی‌دار بودن ارتباط این دو پلی‌مورفیسم با ناباروری نمونه‌های مردان نابارور از نرم افزار SPSS و تست مجذور χ^2 استفاده شد که سطح معنی دار بودن داده‌ها به‌صورت $P<0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج نمونه گیری و استخراج DNA

گروه بیمار تعداد ۱۰۰ مرد نابارور که ۲۰ نفر از آنها اولیگواسپرم و۸۰ نفر آزواسپرم بودند و تعداد ۱۰۰ مرد که دارای فرزند بودند و در گروههای سنی مشابه با بیماران قرار داشتند به عنوان گروه کنترل انتخاب شدند. از نمونه‌های DNA استخراج شده، که دارای کیفیت مناسب روی ژل اگاروز و نسبت جذب نوری بین ۲-۱/۸ بودند برای ژنوتایپینگ استفاده گردید.

نتایج ژنوتایپینگ دو پلی‌مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38* و C109869T در ژن *SLC6A14*

نتایج هضم آنزیمی برای پلی‌مورفیسم T886C ژن *TAS2R38* با آنزیم BseGI

نمونه‌های تکثیر شده با PCR که تحت تاثیر هضم انزیمی با انزیم BseGI قرار گرفته بودند روی ژل اگاروز الکتروفورز شدند. نتایج ژنوتایپ نمونه‌ها با هضم انزیمی برای پلی‌مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38* در شکل ۱ اورده شده است.

نتایج هضم آنزیمی برای پلی‌مورفیسم C109869T ژن *SLC6A14* با آنزیم TaqI

ژنوتایپینگ نمونه‌های گروه بیمار و کنترل، با الکتروفورز محصولات PCR که با انزیم TaqIهضم انزیمی شده بودند، بر روی ژل آگاروز انجام گرفت. نتایج ژنوتایپ نمونه‌ها با هضم انزیمی برای پلی‌مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38* در شکل ۲ اورده شده است.

نتایج بررسی پلی‌مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38* با روش HRM-PCR Corbett

نتایج ژنوتایپینگ پلی‌مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38* با محصولات HRM-Corbett PCR در این مطالعه، تایید کننده نتایج ژنوتایپینگ با هضم آنزیمی با روش PCR-RFLP که انجام شده است، بود و در شکل ۳ (الف و ب) اورده شده است.

نتایج بررسی پلی‌مورفیسم C109869T در ژن *SLC6A14* با روش HRM-PCR Corbett

نتایج ژنوتایپینگ پلی‌مورفیسم C109869T در ژن *SLC6A14* با محصولات HRM-Corbett PCR در این مطالعه، تایید کننده نتایج ژنوتایپینگ با هضم آنزیمی با روش PCR-RFLP که انجام شده است، بود و در شکل ۴ (الف و ب) اورده شده است.

نتایج ژنوتایپینگ با روش Sequencing

برای تایید نهایی نتایج ژنوتایپینگ با روش‌های مولکولی ذکر شده، نمونه‌های ی از هموزیگوت غالب و هموزیگوت مغلوب و هتروزیگوت تعیین توالی شدند و نتایج تعیین توالی با سایت بلاست پایگاه NCBI مورد تایید قرار گرفت. نتایج تعیین توالی با نتایج ژنوتایپینگ با دو روش ذکر شده، همراستا بودند.

آنالیز اماری برای دو پلی‌مورفیسم T886Cدر ژن *TAS2R38* و C109869T در ژن *SLC6A14*

نتایج آنالیز آماری پلی‌مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38*، نشان داد، بین دو گروه بیمار و کنترل اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. بنابراین چنین نتیجه گیری شد که بین حضور پلی‌مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38* و ایجاد ناباروری در جمعیت مورد مطالعه از مردان ایرانی از نظر آماری ارتباط معنی داری وجود ندارد [P =0.9]. اما با مشاهده نتایج آنالیز آماری پلی‌مورفیسم C109869T در ژن *SLC6A14*، و مقایسه داده‌ها بین دو گروه بیمار و کنترل مشخص شد که بین این دو گروه اختلاف معنی‌داری وجود دارد. بنابراین می‌توان چنین نتیجه گرفت که بین حضور پلی‌مورفیسم C109869T در ژن*SLC6A14* و ایجاد ناباروری در جمعیت مردان ایرانی بررسی شده در این تحقیق، از نظر آماری ارتباط معنی داری وجود دارد و پلی‌مورفیسم مذکور در ایجاد ناباروری در این نمونه‌ها می‌تواند نقش موثر داشته باشد [P=0.04]. نتایج آنالیز آماری این دو پلی‌مورفیسم به ترتیب در جدول ۷ و ۸ آورده شده است.

بحث

بر اساس مطالعات انجام شده کمتر از یک سوم دلایل ژنتیکی برای ناباروری مردان هنوز ناشناخته هستند که بنام دلایل ژنتیکی ادیوپاتیک نامیده شده‌اند [۶ و ۱۹ و ۲۰ و ۲۶]. گر چه فاکتورهای

جدول ۱. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده برای دو پلی‌مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38* و C109869T در ژن *SLC6A14*

نام ژن	*TAS2R38*
نام پرایمر و توالی نوکلئوتیدی آن	F- Primer *TAS2R38* 5'- tggtcggctcttaccttcag -3'
	R- Primer *TAS2R38* 5'- tgttgccttcatctctgtgc -3'
طول قطعه تکثیر شده	192bp
دمای اتصال	60° C
مشخصات پلی مورفیسم مورد مطالعه	T886C Ch 7 Rs 10246939
نام ژن	*SLC6A14*
نام پرایمر و توالی نوکلئوتیدی آن	F- Primer SLC6A14 5'- ctggggccctaaatgagtt -3'
	R- Primer SLC6A14 5'- ctgtgtagccgggagttagg -3'
طول قطعه تکثیر شده	183bp
دمای اتصال	62° C
مشخصات پلی مورفیسم مورد مطالعه	C109869T Ch X Rs 5911500

جدول ۲. مواد مورد نیاز برای واکنش PCR برای تکثیر دو پلی مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38* و C109869T در ژن *SLC6A14*

مواد لازم برای واکنش PCR	حجم مواد بر حسب میکرولیتر	غلظت	شرکت سازنده
پرایمر چپ	۱	۱۰ پیکومول	ماکروژن
پرایمر راست	۱	۱۰ پیکومول	ماکروژن
بافر مستر میکس 1X	۱۰	۱/۵ میلی مول	آمپلیکون
نمونه DNA	**4**	۲۰۰ نانوگرم	-
آب دو بار تقطیر شده	**4**	-	-
حجم نهایی	۲۰	-	-

جدول ۳. شرایط برنامه PCR برای تکثیر دو پلی مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38* و C109869T در ژن *SLC6A14*

مراحل برای تکثیر پلی مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38*	زمان	دما	تعداد سیکل
واسرشته شدن اولیه	۵ دقیقه	۹۵ ℃	۱
واسرشته شدن	۳۰ ثانیه	۹۵ ℃	۳۲
اتصال	۳۰ ثانیه	۶۰ ℃	۳۲
طویل شدن	۳۰ ثانیه	۷۲ ℃	۳۲
طویل شدن نهایی	۵ دقیقه	۷۲ ℃	۱
مراحل برای تکثیر پلی مورفیسم C109869T در ژن *SLC6A14*	زمان	دما	تعداد سیکل
واسرشته شدن اولیه	۵ دقیقه	۹۵ ℃	۱
واسرشته شدن	۳۰ ثانیه	۹۵ ℃	۳۲
اتصال	۳۰ ثانیه	۶۲ ℃	۳۲
طویل شدن	۲۵ ثانیه	۷۲ ℃	۳۲
طویل شدن نهایی	۵ دقیقه	۷۲ ℃	۱

جدول ۴. مشخصات انزیم محدودالاثر و قطعات هضم انزیمی در واکنش PCR-RFLP برای دو پلی مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38* و C109869T در ژن *SLC6A14*

نام ژن	نام پلی مورفیسم	طول محصول PCR	نام آنزیم	نوع ژنوتیپ	طول قطعات ایجاد شده با آنزیم
TAS2R38	T886C	192bp	BseGI	TT	100bp,92bp
				TC	192 bp, 100bp, 92bp
				CC	192bp
SLC6A14	C109869T	183bp	TaqI	CC	183bp
				CT	183 bp, 102bp, 81bp
				TT	102bp,81bp

جدول ۵. مقدار و غلظت مواد مورد استفاده در واکنش HRM-PCR در حجم ۲۰ میکرولیتر

مواد لازم برای واکنش PCR	حجم مواد بر حسب میکرولیتر	غلظت	شرکت سازنده
پرایمر چپ	۱	۱۰ پیکومول	ماکروژن
پرایمر راست	۱	۱۰ پیکومول	ماکروژن
بافر مستر میکس 2X	۱۰	۵۰ نانومول	امپلیکون
نمونه DNA	**4**	۲۰۰ نانوگرم	-
Eva Green	**0.8**	-	امپلیکون
آب دو بار تقطیر شده	۳/۲	-	-

جدول ۶. شرایط برنامه HRM-PCR برای تکثیر دو پلی مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38* و C109869T در ژن *SLC6A14*

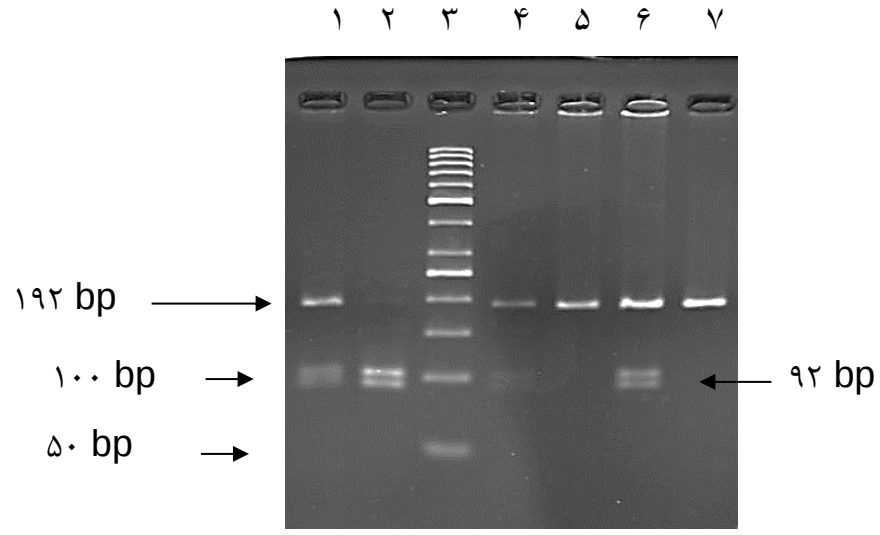
مراحل برای تکثیر پلی مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38*	زمان	دما	تعداد سیکل
واسرشته شدن اولیه	۱۰ دقیقه	۹۵ ℃	۱
واسرشته شدن	۱۵ ثانیه	۹۵ ℃	۴۰
اتصال	۳۰ ثانیه	۶۰ ℃	۴۰
طویل شدن	۳۰ ثانیه	۷۲ ℃	۴۰
طویل شدن نهایی	۵ دقیقه	۷۲ ℃	۱
مراحل برای تکثیر پلی مورفیسم C109869T در ژن *SLC6A14*	زمان	دما	تعداد سیکل
واسرشته شدن اولیه	۱۰دقیقه	۹۵ ℃	۱
واسرشته شدن	۱۵ ثانیه	۹۵ ℃	۴۰
اتصال	۳۰ ثانیه	۶۲ ℃	۴۰
طویل شدن	۲۵ ثانیه	۷۲ ℃	۴۰
طویل شدن نهایی	۵ دقیقه	۷۲ ℃	۱

جدول۷ . نتایج فراوانی ژنوتیپ ها و انالیز اماری پلی مورفیسم T886C در ژن TAS2R38

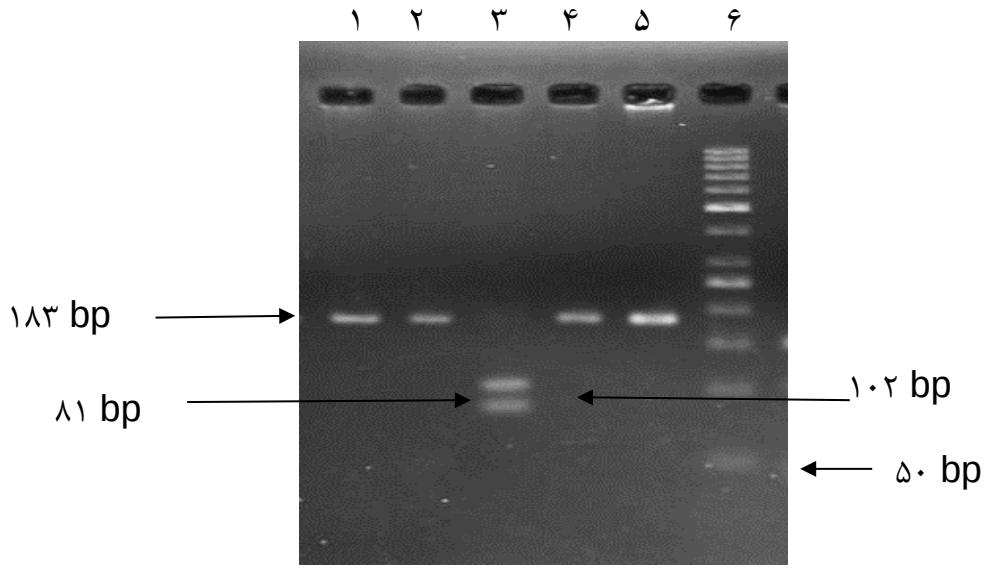
نوع ژنوتیپ برای پلی مورفیسم T886C در ژن TAS2R38	فراوانی در گروه بیمار	فراوانی در گروه کنترل
TT	21%	21%
TC	34 %	34%
CC	45%	45%
نوع الل	فراوانی در گروه بیمار	فراوانی در گروه کنترل	ارزش آماری
T	38%	38%	P=0.9
C	62%	62%	

جدول۸ . نتایج فراوانی ژنوتیپ ها و انالیز اماری پلی مورفیسم C109869T در ژن SLC6A14 بین گروه بیمارو گروه کنترل

فراوانی در گروه کنترل	فراوانی در گروه بیمار		نوع ژنوتیپ برای پلی مورفیسم C109869T در ژن SLC6A14
90%	86%		CC
4%	5%		CT
6%	9 %		TT
ارزش آماری	فراوانی در گروه کنترل	فراوانی در گروه بیمار	نوع الل
P=0.04	92%	88%	C
	8%	12%	T

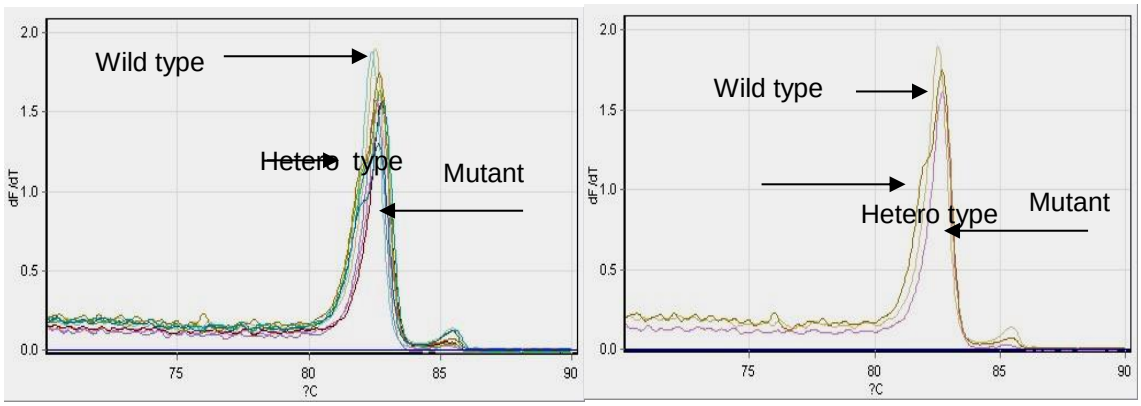


شکل ۱- محصولات هضم آنزیمی برای پلی مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38* . خانه ۳ مارکر ژنتیکی bp ۵۰ ، خانه ۷ محصول PCR [فاقد برش] [bp ۱۹۲]، خانه ۲ نمونه هموزیگوت وحشی برش یافته [TT] [bp ۱۰۰وbp ۹۲]، خانه های ۱و۴ و۶ نمونه هتروزیگوت برش یافته [TC] [bp ۱۹۲ و bp ۱۰۰ و bp ۹۲]، و خانه ۵ نمونه هموزیگوت موتان فاقد برش[CC] [bp ۱۹۲].



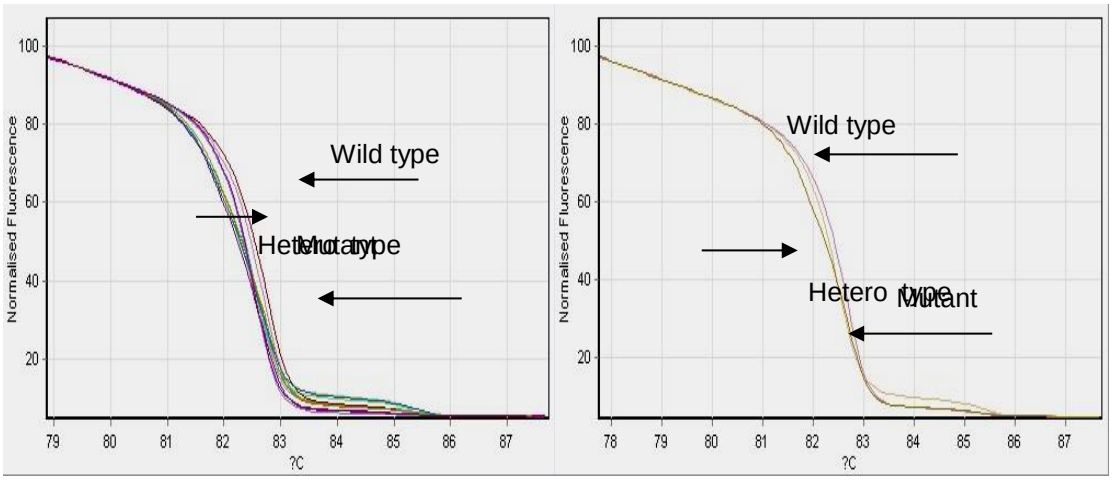
شکل ۲ – محصولات هضم آنزیمی برای پلی مورفیسم C109869T در ژن *SLC6A14* . خانه ۶ مارکر ژنتیکی bp ۵۰ ، خانه ۱ محصول PCR [فاقد برش] [bp ۱۸۳]، خانه های ۲ و ۴ و۵ نمونه هموزیگوت وحشی فاقد برش [CC] [bp ۱۸۳]، و خانه های ۳و۸ نمونه هموزیگوت موتان برش یافته [TT] [bp ۱۰۲ و bp ۸۱].

الف



[۱] [۲]

ب

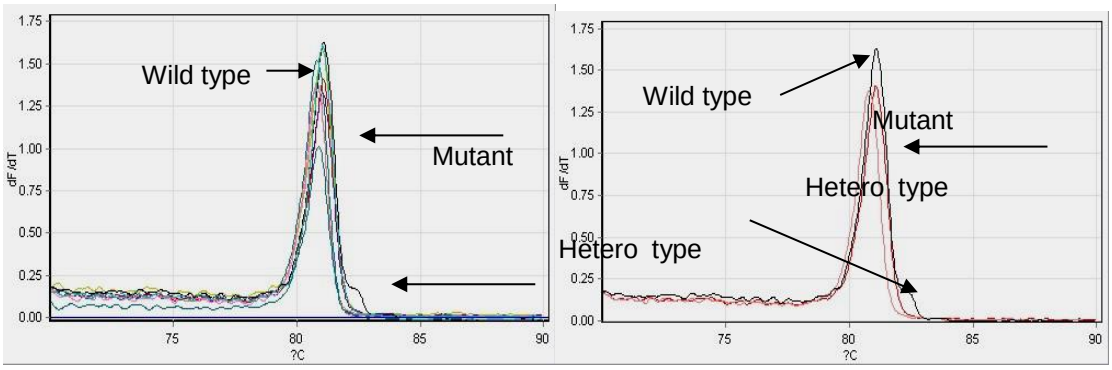


[۱] [۲]

شکل ۳- الف] نمودار Melt data برای نمونه های DNA بیمار و کنترل HRM-PCR شده از ژن *TAS2R38* [نمودار ۱ حالت استاندارد و نمودار ۲ حالت نمونه های مورد آزمون بترتیب: wild type=TT, Hetero type=TC, Mutant=CC].

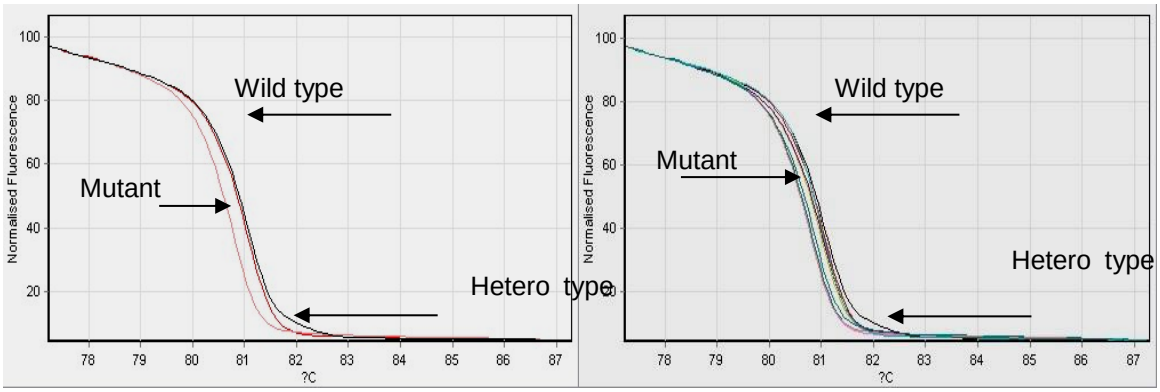
ب] نمودار Normalised Graph برای نمونه های DNA بیمار و کنترل HRM-PCR شده از ژن *TAS2R38* [نمودار ۱ حالت استاندارد و نمودار ۲ حالت نمونه های مورد آزمون بترتیب: wild type=TT, Hetero type=TC, Mutant=CC].

الف



[۱] [۲]

ب



[۱] [۲]

شکل ۴- الف] نمودار Melt data برای نمونه های DNA بیمار و کنترل HRM-PCR شده از ژن SLC6A14 [نمودار ۱ حالت استاندارد و نمودار ۲ حالت نمونه های مورد آزمون بترتیب: wild type=CC, Hetero type=CT, Mutant=TT].

ب] نمودار Normalised Graph برای نمونه های DNA بیمار و کنترل HRM-PCR شده از ژن SLC6A14 [نمودار ۱ حالت استاندارد و نمودار ۲ حالت نمونه های مورد آزمون بترتیب: wild type=CC, Hetero type=CT, Mutant=TT].

محیطی می‌توانند نقش مهمی در ناباروری مردان داشته باشند، مطالعات امروزه تغییرات ژنتیکی را، در کنار فاکتورهای محیطی، عامل موثری دراین امر می‌داند و خصوصا توجه زیادی به علل ناباروری ادیوپاتیک شده است [۱ و۷ و ۱۴ و۲۰ و ۲۳]. بر این اساس در این تحقیق به بررسی ارتباط دو پلی‌مورفیسمT886C در ژن *TAS2R38* و C109869T در ژن *SLC6A14* که با ایجاد آزواسپرمی و اولیگواسپرمی در ناباروری ادیوپاتیک مردان بطور معنی‌داری ارتباط دارند، در جمعیتی از مردان نابارور ایرانی پرداخته شده است. در تحقیق حاضر این پلی‌مورفیسم‌ها با روش‌های مولکولیHRM-PCR Corbett و PCR-RFLP و طراحی پرایمرهای اختصاصی با نرم افزار DNAsisMan با توانایی تکثیر طول قطعه کوتاهتر از bp ۲۰۰ مورد مطالعه قرار گرفتند و نتایج نشان داد، پلی‌مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38* ، الل C با فراوانی مشابه ۶۲% در دو گروه بیمار و کنترل، تفاوت معنی داری بین گروه بیماران و گروه کنترل ندارد و در نتیجه بین این پلی‌مورفیسم و ایجاد اولیگواسپرمی و آزواسپرمی و ناباروری، با جمعیت مردان مورد مطالعه ارتباطی وجود ندارد. ولی برای پلی‌مورفیسم C109869T در ژن *SLC6A14* ، الل T با فراوانی 12% در گروه بیمار در مقایسه با گروه کنترل که ۸% بدست امد، تفاوت معنی دار بین گروه بیمار و کنترل مشاهده شد و در نتیجه این پلی‌مورفیسم می‌تواند با ناباروری آدیوپاتیک در جمعیت مردان ایرانی مورد مطالعه و ایجاد اولیگواسپرمی و آزواسپرمی ارتباط معنی دار داشته باشد. با بررسی نتایج ارتباط این دو پلی‌مورفیسم درجمعیت مردان نابارور ایرانی و مقایسه ان با سایر جمعیت‌ها در ایجاد ناباروری ادیوپاتیک، نتایج زیر حاصل شد.

در بررسی پلی‌مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38* در مطالعات گذشته که با روش (Genomic Wide (GWAS SNP Association Study و microarray به بررسی این پلی‌مورفیسم پرداخته شده است مشخص شده که پلی‌مورفیسم مذکور با ایجاد اولیگو اسپرمی و ازواسپرمی در ناباروری ادیوپاتیک مردان موثر است. در یکی از این مطالعات که در سال ۲۰۱۰ توسط Aston و همکاران بر روی ۱۷۲ پلی‌مورفیسم و چندین پلی‌مورفیسم جدید، در جمعیت مردان آزواسپرم و اولیگواسپرم اروپایی انجام قرار گرفته است مشخص شده است که یکی از این پلی‌مورفیسم‌ها که در آن جمعیت از نظر ایجاد ناباروری ادیوپاتیک در مردان معنی دار بوده است، T886C در ژن *TAS2R38* می‌باشد [۵]. در مطالعه Aston نشان داده شده است که حضور این پلی‌مورفیسم سبب بروز فنوتیپ اولیگواسپرمی می‌گردد و این اثر را با تغییراسید آمینه ایزولوسین به والین و تغییر نقش تنظیم کننده این ژن روی گیرنده‌های طعم مزه‌ها دارد، ایفا می‌نماید. گرچه این نقش مستقیما روی

اسپرماتوژنز اثر نمی گذارد اما تحقیقات در این زمینه نشان داده است که روی گیرنده‌های پروتئینی خاصی که روی تستیس وجود دارد تاثیر می‌گذارند و سبب تغییر روند اسپرماتوژنز و بلوغ اسپرم و در نتیجه ایجاد آزواسپرمی می‌گردد. در مطالعه Aston حضور این پلی‌مورفیسم تفاوت معنی‌داری بین گروه بیمار و گروه کنترل نشان داد (P=0.0002) [۵]. ولی در تحقیق حاضر که پلی‌مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38* برای نخستین بار، در جمعیت مردان ایرانی که ناباروری ادیوپاتیک داشتند، با روش Real Time PCR-HRM Corbett و روش PCR- RFLP صورت پذیرفت، مشخص گردید که فراوانی این پلی‌مورفیسم در بین گروه مردان نابارور و بارور ایرانی تفاوت معنی داری ندارد (P=0.9) و در نتیجه نمی تواند بعنوان عاملی برای ناباروری ادیوپاتیک در مردان مورد مطالعه مطرح شود که این عدم همخوانی نتایج می‌تواند بدلیل تفاوت روش بررسی و یا تعداد نمونه‌های مورد انالیز و یا تفاوت جغرافیایی و جمعیتی نمونه‌های مورد بررسی حاصل شده باشد. سال ۲۰۱۷ در تحقیقی که توسط Gentiluomo و همکارانش انجام گرفت، گزارش گردید که بین حضور پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی در ژن *TAS2R38* و ناباروری مردان ارتباط معنی دار وجود دارد. آنان بیان نمودند که حضور این پلی‌مورفیسم‌ها سبب تغییر بیان ژن مذکور در سلول‌های بیضه شده و با تاثیر بر تقسیم میتوز در سلول‌های سرتولی، مانع بلوغ و تمایز سلول‌های طبیعی اسپرم می‌شوند و می‌توانند نقش موثری در ناباروری مردان داشته باشند [۱۳]. که البته نتایج تحقیق حاضر با ان نتایج مغایرت نشان داده است. در مطالعه ایی که Luddi و همکاران در سال ۲۰۱۹ انجام دادند مشخص گردید که ژن *TAS2R38* و پلی‌مورفیسم‌های ان می‌تواند بر ناباروری مردان تاثیرگذار باشد. آنان بیان نمودند این ژن در سلولهای اپیتلیال خاصی بیان می‌شود که تاثیر قابل ملاحظه ایی در فازهای مختلف از اسپرماتوژنز بر بلوغ و تمایز اسپرم می‌تواند داشته باشد. حضور پلی‌مورفیسم‌ها در این ژن از جمله پلی‌مورفیسم T886C در ژن مذکور می‌تواند با تاثیری که در روند اسپرماتوژنز بر تولید اسپرم غیر طبیعی دارد بر ناباروری مردان اثر موثری بگذارد [۱۹]. ولی نتایج تحقیق حاضر بر خلاف مطالعه Luddi و همکاران ارتباط معنی داری را بین حضور پلی‌مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38* و ایجاد ناباروری در جمعیت مردان ایرانی مورد مطالعه نشان نداد، که می‌تواند بدلیل عدم تشابهت جغرافیایی و یا تعداد نمونه و روش کار متفاوت این بین دو تحقیق مربوط شود. همچنین در تحقیقاتی که در سالهای اخیر به خصوص سال ۲۰۲۲ توسط Risso و همکاران، بر روی پلی‌مورفیسم‌های ژن *TAS2R38* انجام شده است، اشاره نمود که در ان تحقیق مشخص گردیده است که حضور این پلی‌مورفیسم‌ها با فراوانی بالا می‌تواند سبب بروز بیماری‌های مختلف از جمله ناباروری گردد و نشانگر این نکته است که در خصوص پلی‌مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38* و ارتباط ان با ایجاد ناباروری نیاز به بحث و بررسی بیشتر در تحقیقات اینده وجود دارد [۵ و ۸ و ۱۳ و۱۵ و۱۶ و ۲۱].

در مطالعات سالهای گذشته که به بررسی پلی‌مورفیسم T109869C در ژن *SLC6A14* با روش روش (GWAS) Genomic Wide SNP Association Study و microarray پرداخته شده است مشخص گردیده است که این پلی‌مورفیسم با ایجاد آزواسپرمی و اولیگو اسپرمی و تغییراتی که در روند تکوین اسپرم می‌گذارد، می‌تواند با ناباروری ادیوپاتیک مردان ارتباط داشته باشد. مطالعه Aston و همکارانش که در سال ۲۰۱۰ انجام گرفته است، ۱۷۲ پلی‌مورفیسم و تعدادی از انها برای اولین بار در جمعیت مردان نابارور اروپایی مورد بررسی قرار گرفته اند. نتایج تحقیق انان مشخص نموده است که پلی‌مورفیسم T109869C در ژن *SLC6A14*، بعنوان یکی از پلی‌مورفیسم‌های که با ایجاد اولیگو اسپرمی و ازواسپرمی، می‌تواند در ناباروری مردان اروپایی نقش موثر داشته باشد، مطرح می‌باشد [۵]. در مطالعه Aston نشان داده شده است که حضور این پلی‌مورفیسم می‌تواند سبب بروز فنوتیپ اولیگواسپرمی گردد و این اثر را با نقش تنظیم کننده ای که این ژن روی پروتئین‌های ی که درانتقال محلول‌ها از غشا دارند، ایفا می‌نماید. همچنین این پروتئین‌های انتقالی که در گروه نوروترانسمیترها قرار دارند در انتقال اسید آمینه‌های کاتیونی نقش داشته و در نتیجه بطور غیر مستقیم اسپرماتوژنز را تحت تاثیر قرار می‌دهند و سبب آسیب به اسپرم بصورت کاهش تعداد اسپرم و تغییرات هورمونی، می‌گردند. در بررسی Aston و همکاران تفاوت معنی داری بین گروه بیماران و گروه کنترل با حضور این پلی‌مورفیسم گزارش شده است (P=0.00004) [۵]. در تحقیق حاضر نیز که برای

نخستین بار، پلی‌مورفیسم T109869C از ژن *SLC6A14* در جمعیت مردان ایرانی که ناباروری ادیوپاتیک داشتند، با روش Real Time PCR-HRM Corbett و روش PCR-RFLPمورد بررسی قرار گرفت، نتایج مشخص نمود که فراوانی پلی‌مورفیسم مذکور در بین گروه مردان نابارور و گروه کنترل جمعیت ایرانی مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری دارد (P=0.04) و در نتیجه می‌تواند بعنوان عاملی در ایجاد آزواسپرمی و اولیگواسپرمی و در نتیجه بروز ناباروری ادیوپاتیک در مردان ایرانی مطرح باشد و از این نظر با نتایج تحقیق Aston همخوانی داشت. در تحقیق دیگری که توسط Noverski و همکاران در سال ۲۰۱۴ انجام شد، مشخص گردید بین حضور سه پلی‌مورفیسم rs2312054, rs2071877 و rs2011162 در ژن *SLC6A14* با ناباروری مردان ارتباط معنی دار وجود دارد. انان بیان داشتند حضور این پلی‌مورفیسم‌ها در ژن مذکور می‌تواند اختلال در انتقال تریپتوفان و سنتز سروتونین که موثر بر روند اسپرماتوژنز و عملکرد طبیعی بیضه‌ها می‌باشند، ایجاد نماید، در نتیجه می‌تواند در ایجاد الیگواسپرمی و ازواسپرمی و ناباروری مردان تاثیر موثری داشته باشد [۱۸]. نتایج تحقیق انان با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت. در سال ۲۰۲۰ مطالعه Ruffin و همکاران نشان داد ژن *SLC6A14* نقش موثری در فیزیولوژی و پاتولوژی بیماری‌های مرتبط با ریه و دستگاه گوارشی و کسیتیک فیبروزیز دارد که در نتیجه حضور پلی‌مورفیسم‌ها در این ژن، می‌تواند در ناباروری مردان تاثیر موثر داشته باشد [۲۲]. که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. همچنین در تحقیقاتی که در سال‌های اخیر به خصوص توسط Sivaprakasama و همکاران در سال ۲۰۲۱ انجام گرفته است، مشخص شده که حضور پلی‌مورفیسم‌ها در ژن *SLC6A14* می‌تواند با بروز بیماری‌های مختلف از جمله بروز ناباروری مرتبط باشد و از این نظر شناسایی تمام نواحی این ژن و عملکرد پلی‌مورفیسم‌های آن برای اثبات ایجاد ناباروری در مردان، را در تحقیقات تکمیلی اینده مطرح می‌نماید [۵ و ۱۷ و۱۸ و ۲۲ و ۲۵]. در مطالعه حاضر در خصوص حضور پلی‌مورفیسم‌های مرتبط با ناباروری مردان در جمعیت مردان نابارور ایرانی از روش HRM Corbett استفاده شده است که این روش با توانایی بالا در تشخیص پلی‌مورفیسم‌های مورد مطالعه و با قدرت رزولیشن بالا می‌تواند راهگشایی برای تشخیص تغییرات ژنتیکی در مطالعات اخیر به خصوص با وجود تعداد زیاد نمونه‌ها مطرح باشد و روش دقیقی برای آنالیز نتایج و رسم نمودارها با داشتن نرم افزارهای مربوطه می‌باشد. بنابراین در کنار استفاده از روش‌های دارای قدرت تفکیک بالا، تعداد نمونه‌های بیشتر و نمونه‌های ی از قومیت‌ها و جمعیت‌های مختلف جغرافیایی برای تایید نتایج این تحقیق توصیه می‌گردد.

نتیجه‌گیری

در این تحقیق به بررسی دو پلی‌مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38* و C109869T در ژن *SLC6A14* که در تنظیم روند اسپرماتوژنز و در نتیجه بروز اولیگو اسپرمی و ازواسپرمی و ناباروری مردان می‌تواند نقش موثر داشته باشند، پرداخته شده است و نتایج آن مشخص نمود که بین حضور پلی‌مورفیسم T886C در ژن *TAS2R38* و ناباروری ادیوپاتیک مردان ایرانی در جمعیت مورد مطالعه ارتباط معنی‌داری وجود ندارد ولی حضور پلی‌مورفیسم C109869T در ژن *SLC6A14* می‌تواند با اثر بر روند تکوین اسپرم در ایجاد الیگواسپرمی و ازواسپرمی و در نتیجه بروز ناباروری ادیوپاتیک در مردان ایرانی موثر باشد. برای مطالعات بعدی در این زمینه تعداد بیشتری از نمونه‌های مردان نابارور و در جمعیت‌ها و قومیت‌های مختلف ایرانی و سایر کشورهای دنیا پیشنهاد می‌گردد تا بتوان از نتایج این تحقیقات در درمان و کنترل و پیش اگهی ناباروری که بعنوان معزل اجتماعی - اقتصادی - عاطفی در خانواده‌ها مطرح می‌باشد، استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

از کلیه پرسنل و بیماران مرکز ناباروری نوید و مسئولان محترم پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک که در انجام کارهای آزمایشگاهی این تحقیق کمال همکاری را مبذول فرموده اند، تشکر و قدردانی بعمل می‌آید.

منابع

[1] Agarwal A., Baskaran S., Parekh N., Cho Ch. L., Henkel R., Vij S., Arafa M., Panner Selvam M. K., Shah R. 2021. Male infertility. Lancet, 397(10271): 319-33.

of Antioxidants and Inositols. Antioxidants, 10(1283): 1-20.
[11] Dutta S., Sengupta P. 2021. SARS-CoV-2 and male infertility: Possible multifaced pathology. Reprod. Sci, 28: 23–26.
[12] Fave R.F.D., Polisini G., Giglioni G., Parlavecchio A., Dell Atti L., Galosi A.B. 2021. COVID-19 and male fertility: Taking stock of one year after the outbreak began. Arch. Ital. Urol. Androl, 93: 115–119.
[13] Gentiluomo M., Crifasi L., Luddi A., Locci D., Barale R., Piomboni P., Camp D. 2017. Taste receptor polymorphisms and male infertility. Human Reproduction, 32(11): 2324–2331.
[14] Karavolos S., Panagiotopoulou N., Alahwany H., da Silva S.M. 2020. An update on the management of male infertility. The Obstetrician Gynaecologist, 22: 267–74.
[15] Khimsuksri S., Paphangkorakit J., Pitiphat W., Coldwell E.S. 2022. TAS2R38 polymorphisms and oral diseases in Thais: a cross-sectional study. BMC Oral Health, 22(21): 1-9.
[16] Luddi A., Governini L., Wilmskötter D., Gudermann Th., Boekhoff I., Piomboni P. 2019. Taste Receptors: New Players in Sperm Biology. Int. J. Mol. Sci, 20: 967.
[17] Mercier J., Calmel C., Mésinèle J., Sutanto E., Merabtene F., Longchampt E., Sage E., Kicic A., Boëlle P.Y., Corvol H., Ruffin M., Guillot L. 2022. SLC6A14 Impacts Cystic Fibrosis Lung Disease Severity via mTOR and Epithelial Repair Modulation. Front. Mol. Biosci, 9(850261): 1-10.
[18] Noveski P., Mircevska M., Plaseski T., Peterlin B., Plaseska-Karanfilska D. 2014. Study of Three Single Nucleotid Polymorphisms in The SLC6A14 Gene in Association with Male Infertility. BJMG, l7[2]: 61-66.
[19] Oud M. S., Smits R. M., Smith H. E., Mastrorosa F.K., Holt G.S., Houston B.J., et al. 2022. A de novo paradigm for male infertility. Nature Communications, 13: 154.
[20] [Ring J. D., Lwin A. A., Köhler T. S. 2016. Current medical management of endocrine-related male infertility. Asian Journal of Andrology, 18: 357–363.
[2] Alahmar A.T., Calogero A.E., Singh R., Cannarella R., Sengupta P., Dutt S. 2021. Coenzyme Q10, oxidative stress, and male infertility: A review. Clin Exp Reprod Med, 48(2): 97-104.
[3] Andrade D. L., Viana M. C., Esteves S.C. 2021. Differential Diagnosis of Azoospermia in Men with Infertility. J. Clin. Med, 10: 3144.
[4] Arafa M., Agarwal A., Majzoub A., Panner Selvam M. K, Baskaran S., Henkel R., Elbardis H. 2020. Efficacy of Antioxidant Supplementation on Conventional and Advanced Sperm Function Tests in Patients with Idiopathic Male Infertility. Antioxidants, 9(219): 1-15.
[5] Aston K. I., Krausz C., Laface I., Ruiz-Castané E., Carrell D.T. 2010. Evaluation of 172 candidate polymorphisms for association with oligozoospermia or azoospermia in a large cohort of men of European descent. Hum Reprod, 25(6): 1383-97.
[6] Ayad B., Omolaoye T. S., Louw N., Ramsunder Y., Skosana B.T., Oyeipo P.I., Du Plessis S. S. 2022. Oxidative Stress and Male Infertility: Evidence from a Research Perspective. Front. Reprod. Health, 4 (822257): 1-15.
[7] Babakhanzadeh E., Nazari M., Ghasemifar S., Khodadadia A. 2020. Some of the Factors Involved in Male Infertility: A Prospective Review. International Journal of General Medicine, 13: 29–41.
[8] Cecati M., Vignini A., Borroni F., Pugnaloni S., Alia S., Sabbatinelli J., Nicolai G., Taus M., Santarelli A., Fabri M., et al. 2022. TAS1R3 and TAS2R38 Polymorphisms Affect Sweet Taste Perception: An Observational Study on Healthy and Obese Subjects. Nutrients, 14(1711): 1-13.
[9] Chaudhuri G. R., Das A., Bandhu Kesh S., Bhattacharya K., Dutta S., Sengupta P., Syama A.K. 2022. Obesity and male infertility: multifaceted reproductive disruption. Middle East Fertility Society Journal, 27(8): 1-12.
[10] De Luca M. N., Marisa Colone M., Gambioli R., Stringaro A., Unfer V. 2021. Oxidative Stress and Male Fertility: Role

[21] Risso D., Carmagnola D., Morini G., Pellegrini G., Canciani E., Antinucci M., Henin D., Dellavi C. 2022. Distribution of TAS2R38 bitter taste receptor phenotype and haplotypes among COVID‑19 patients. Sci Rep, 12(7381): 1-7.

[22] Ruffin M., Mercier J., Calmel C., Mésinèle J., Bigot J., Sutanto E.N., Kicic A., Corvol H., Guillot L. 2020. Update on SLC6A14 in lung and gastrointestinal physiology and physiopathology: focus on cystic fibrosis. Cellular and Molecular Life Sciences, 77: 3311–3323.

[23] Sharma A., Minhas S., Dhillo W.S., Jayasena C.N. 2021. Male infertility due to testicular disorders. J Clin Endocrinol Metab, 106(2): e442-e459.

[24] Shokrzadeh M, Mohammadpour A. 2018. Evaluation of a modified salt-out method for DNA extraction from whole blood lymphocytes: A simple and economical method for gene polymorphism. Pharm Biomed Res. 4(2): 28-32.

[25] Sivaprakasama S., Sikdera M.O.F., Ramalingamb L., Kaurc G., Dufoura J.M., Moustaid-Moussab N., Wachtele M.S., Ganapathy V. 2021. SLC6A14 deficiency is linked to obesity, fatty liver, and metabolic syndrome but only under conditions of a high-fat diet. BBA-Molecular Basis of Disease, 1867(166087): 1-10.

[26] Witherspoon L., Flanniga R. 2021. Male factor infertility Initial workup and diagnosis in primary care. Canadian Family Physician, 67: 248-54.

[27] Yin Y., Zhu P., Luo T., Xia X. 2020. Association of single-nucleotide polymorphisms in antioxidant genes and their gene-gene interactions with risk of male infertility in a Chinese population. BIO Med Rep, 13: 49-54. 27.

Journal of Developmental Biology
Vol. 16, No.1, Winter 2024

Association of single nucleotide polymorphisms T886C in *TAS2R38* gene and C109869T in *SLC6A14* gene with Idiopathic infertility in Iranian men

Siasi E.[1]*, Aleyasin A.[2], Mowla J.[3]

[1] Assistant Professor, PhD of Getetic, Department of Microbiology, faculty of science, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran..
[2] Associate Professo, PhD of Getetic, Medical genetic department, National Institute for Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran.
[3] Associate Professor, PhD of Getetic, Department of Molecular Genetics, faculty of science, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

* (Corresponding author): emi_biotech2006@yahoo.ca

https://doi.org/10.30495/jdb.2023.1963938.1321

Received: July .2022 Accepted: February.2023

Abstract

Frequency of male infertility is 10-15% and there is not definite reason in 50% of infertility in men. This form of infertility is named idiopathic infertility and genetic factors are one of male infertility causes. Therefore, aim of this study was investigation on association between T886C polymorphism in *TAS2R38* gene and C109869T polymorphism in *SLC6A14* gene with Iranian idiopathic infertile male. For this study. DNA was extracted from ۲۰۰ blood samples consist of ۱۰۰ men with idiopathic infertility (oligospermic and azoospermia) and 100 fertile men as control groups. Genotyping of two studied polymorphisms were performed by using of molecular methods, HRM-PCR Corbett, PCR-RFLP and Sequencing, then results were statistical analyzed. For T886C polymorphism in *TAS2R38* gene statistical analysis showed no significant difference between patient and control groups [P=0.9] and results shown was not association between this polymorphism and idiopathic male infertility in Iranian population. Frequency of C109869T polymorphism in *SLC6A14* gene was different in infertile patients and control groups [P=0.04] and is indicated significant relationship with idiopathic male infertility in studied Iranian men population. According to this research results, The C109869T polymorphism in *SLC6A14* gene is actual in affected of idiopathic infertility in Iranian men population and could cause oligospermia and azoospermia and created infertility in Iranian male. For confirming these results is recommended study on more samples..

Keywords: Idiopathic male infertility, Polymorphism, HRM-PCR Corbett ، PCR-RFLP ، Sequencing.