Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 15:44 +0330 on Monday January 22nd 2018

Arak Medical University Journal (AMUJ)
2015; 18(100): 85-91

Original Article

Association of Arg399Gln Polymorphism of *XRCC1* with Idiopathic Male Infertility in Guilan Province

Samira Marzband[1], Farhad Mashayekhi[1], Zivar Salehi[1*], Mohammad Hadi Bahadori[2]

1- Department of Biology, University of Guilan, Rasht, Iran
2- Department of Anatomy, Medical Science University of Guilan, Rasht, Iran.

Received: 9 Feb 2015, Accepted: 10 May 2015

Abstract

Background: Approximately, 50% of male infertility causes have remained unknown. It seems that genetic disorders may lead to many cases of idiopathic infertility. XRCC1 (X-ray Repair Cross Complementing group 1) acts as a scaffolding protein in the base excision repair (BER) and single strand break repair (SSBR). Single nucleotide polymorphisms (SNP) of *XRCC1* may influence DNA repair capacity. Thus, they had been considered as a risk factor for infertility. XRCC1 Arg399Gln polymorphism was located on protected domain, BRCT1. The aim of this study was to explore the possibility of association between XRCC1 Arg399Gln polymorphism and susceptibility to idiopathic male infertility.

Materials and Methods: In this case-control study, the genotype and allele frequencies of Arg399Gln polymorphism were examined by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) on a Guilanian population consisting of 144 men with idiopathic infertility and 166 healthy men. Statistical analysis was performed using the MedCalc 12 software.

Results: According to our results, compared with Arg/Arg genotype, the Arg/Gln, Gln/Gln and Arg/Gln + Gln/Gln genotypes showed a significant association with an increased risk of idiopathic male infertility (OR=4.19; 95%CI 2.37-7.41, $p<0.0001$), (OR=3.42; 95%CI 1.50-7.81, $p<0.0034$), (OR=4.06; 95%CI 2.32-7.09, $P<0.0001$), respectively. In addition, the Gln allele frequency in patients was significantly higher than that in controls($p=0.0004$).

Conclusion: In total, Arg399Gln polymorphism of *XRCC1* gene can be associated with male infertility and Gln allele might be a risk factor of idiopathic male infertility in in this sample population. Larger population and different ethnicities should be studied to achieve a definitive conclusion.

Keywords: BER, Idiopathic male infertility, Polymorphism, *XRCC1*

*Corresponding Author:
Address: Department of Biology, University of Guilan, Rasht, Iran
Email: geneticzs@yahoo.co.uk

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 15:44 +0330 on Monday January 22nd 2018

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال ۱۸، شماره ۷ (شماره پیاپی ۱۰۰)، مهر ۱۳۹۴، ۸۵-۹۱

ارتباط پلی‌مورفیسم Arg399Gln ژن *XRCC1* با ناباروری ایدیوپاتیک مردان در استان گیلان

سمیرا مرزبند[۱]، فرهاد مشایخی[۲]، زیور صالحی[۲*]، محمدهادی بهادری[۳]

۱- کارشناسی ارشد بیولوژی سلولی و تکوینی، گروه زیست شناسی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۲- استاد، گروه زیست شناسی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۳- دانشیار، گروه آناتومی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۱/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۴/۲/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: تقریبا ۵۰ درصد دلایل اصلی ناباروری مردان ناشناخته مانده است. به نظر می‌رسد اختلالات ژنتیکی مسبب بروز بسیاری از موارد ناباروری ایدیوپاتیک باشد. پروتئین داربستی ترمیم اشعه ایکس گروه ۱(XRCC1) در مسیر ترمیم برش پایه (BER) و ترمیم شکست تک رشته DNA (SSBR) نقش دارد. پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی *XRCC1* ممکن است ظرفیت ترمیم DNA را دستخوش تغییر قرار دهند. از این رو به عنوان عامل خطر ابتلا به ناباروری در نظر گرفته می‌شوند. پلی‌مورفیسم Arg399Gln ژن *XRCC1* در دومین حفاظت شده BRCT1 قرار دارد. هدف از این مطالعه، بررسی احتمال ارتباط بین پلی‌مورفیسم Arg399Gln ژن *XRCC1* و استعداد ابتلا به ناباروری ایدیوپاتیک مردان است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد-شاهدی، فراوانی ژنوتیپی و آللی پلی‌مورفیسم Arg399Gln از طریق واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز- پلی‌مورفیسم طول قطعه محدودکننده (PCR-RFLP) در یک جمعیت گیلانی شامل ۱۴۴ مرد مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک و ۱۶۶ مرد سالم مورد بررسی قرار گرفت. تحلیل آماری به کمک نرم‌افزار مدکالک نسخه ۱۲ انجام شد.

یافته‌ها: با توجه به نتایج این تحقیق، ژنوتیپ‌های Arg/Gln، Gln/Gln و Arg/Gln+Gln/Gln در مقایسه با ژنوتیپ Arg/Arg به ترتیب ارتباط معنی‌داری با افزایش خطر ابتلا به ناباروری ایدیوپاتیک مردان نشان می‌دادند(p<۰/۰۰۰۱، CI=۲/۳۷-۷/۴۱ برابر با ۹۵ درصد، OR=۴/۱۹)، (p<۰/۰۰۳۴، CI=۱/۵۰-۷/۸۱ برابر با ۹۵ درصد، OR=۳/۴۲)، (p<۰/۰۰۰۱، CI=۲/۳۲-۷/۰۹ برابر با ۹۵ درصد، OR=۴/۰۶). به علاوه، فراوانی آلل Gln در بیماران مبتلا به ناباروری به شکل معنی‌داری بیشتر از افراد شاهد بود(p=۰/۰۰۰۴).

نتیجه‌گیری: در مجموع، پلی‌مورفیسم Arg399Gln ژن *XRCC1* می‌تواند با ناباروری ایدیوپاتیک مردان در ارتباط باشد و آلل Gln ممکن است یک فاکتور خطر ناباروری ایدیوپاتیک مردان در جمعیت مورد مطالعه باشد. برای رسیدن به یک نتیجه‌گیری قطعی لازم است که یک جمعیت بزرگ‌تر و اقوام مختلف مورد مطالعه قرار گیرند.

واژگان کلیدی: BER، ناباروری ایدیوپاتیک مردان، پلی‌مورفیسم، *XRCC1*

* **نویسنده مسئول:** رشت، دانشگاه گیلان، گروه زیست شناسی

Email: geneticzs@yahoo.co.uk

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 15:44 +0330 on Monday January 22nd 2018

مقدمه

ناباروری یکی از مشکلات مهم جوامع امروزی است که جمعیتی بالغ بر ۶۰ تا ۸۰ میلیون نفر، به عبارتی ۱۰ تا ۱۵ درصد زوجین در سن باروری در سراسر جهان با آن مواجه هستند. فاکتورهای مردانه در ۵۰ درصد موارد ناباروری دخیل هستند(۱). علی‌رغم شناسایی عوامل متعدد ایجاد کننده ناباروری در مردان، علت حدود نیمی از این موارد ناشناخته مانده است که از آن تحت عنوان «ناباروری ایدیوپاتیک» یاد می‌شود(۲). دلیل اصلی ناباروری مردان، اختلال در روند اسپرم‌زایی است. ۱۵ تا ۳۰ درصد ناباروری مردان به دلیل اختلالات ژنتیکی تأثیر گذار بر روند اسپرم‌زایی صورت می‌گیرد و چنین به نظر می‌رسد که می‌تواند زمینه‌ساز بسیاری از موارد ناباروری‌های ایدیوپاتیک باشد. این اختلالات شامل ریز حذف کروموزوم Y، اختلالات کروموزومی، حذف‌های ژنتیکی و پلی‌مورفیسم‌ها می‌باشند(۳، ۴). به علاوه، همه ما روزانه در معرض عوامل آسیب‌رسان داخلی و خارجی از قبیل تابش پرتو فرا بنفش، رادیکال‌های آزاد و مواد آلکیل‌کننده هستیم که می‌توانند منجر به آسیب‌دیدگی DNA شوند. بر اساس تحقیقات انجام شده، کاهش یا فقدان قدرت ترمیم DNA موجب افزایش بروز خطر جهش در سلول‌های زاینده و متعاقب آن اختلال در روند اسپرم‌زایی می‌شود(۵). ظرفیت ترمیم آسیب‌های DNA در افراد سالم متفاوت است که منجر به تفاوت در قدرت تحمل آسیب‌های DNA ناشی از پرتوها می‌گردد. این تفاوت‌ها می‌توانند ناشی از تنوعات ژن‌های ترمیم DNA یا همان پلی‌مورفیسم‌های ژنی باشند(۶). پلی‌مورفیسم‌های مضر ژن‌های ترمیم کننده DNA می‌توانند نقش مهمی در باروری مرد ایفا کنند، به طوری که بر یکپارچگی DNA اثر منفی بگذارند. از آن‌جایی که عملکرد طبیعی اسپرم در گرو حفظ یکپارچگی DNA آن است، آسیب‌دیدگی DNA می‌تواند بر عملکرد طبیعی اسپرم اثر منفی بگذارد(۷). مسیر ترمیم برش پایه (BER) مسئول اصلی ترمیم شکست‌های تک رشته DNA و آسیب‌های اکسیداتیو DNA می‌باشد. *(XRCC1)* یکی از بیست ژنی است که در مسیر ترمیم BER مشارکت دارد(۱۰-۸). این ژن با ۱۷ اگزون بر روی بازوی بلند کروموزوم ۱۹ 19q3.2-3.3 قرار دارد(۱۰). پروتئین *XRCC1* به عنوان یک پروتئین داربستی با سایر پروتئین‌های مسیر BER نظیر PARP، DNApolβ و DNAligIII میان‌کنش می‌دهد. برخی پلی‌مورفیسم‌های عملکردی ژن *XRCC1* با جایگزینی غیرحفاظتی اسیدهای‌آمینه، ظرفیت ترمیم را دستخوش تغییر قرار می‌دهند. به این ترتیب می‌توانند زمینه ابتلا به بیماری‌های مختلف به ویژه سرطان را ایجاد نمایند(۱۱، ۱۲). یکی از پلی‌مورفیسم‌های عملکردی مهم ژن *XRCC1*، Arg399Gln (rs.25487) واقع در اگزون ۱۰ است. با جایگزینی A به جای G در این ناحیه، اسیدآمینه گلوتامین جایگزین آرژنین می‌شود. تا کنون نقش این پلی‌مورفیسم در افزایش خطر ابتلا به برخی سرطان‌ها ازجمله ریه، سینه و مثانه مشخص شده است(۱۵-۱۳).

بررسی‌های اخیر نشان داده‌اند که بیان *XRCC1* در جریان اسپرم‌زایی و در سلول‌های سرتولی بالا است(۸). در ضمن وجود مقادیر بالای *XRCC1* در مرحله پاکی‌تن اسپرماتوسیت‌ها و نیز در اسپرم‌ها، خود موید نقش این پروتئین در حفظ روند اسپرم‌زایی در مقابل آسیب‌های DNA در سلول‌های زاینده است(۱۶). تا کنون مطالعات اندکی در زمینه ارتباط *XRCC1* و ناباروری مردان صورت گرفته است. از این رو مطالعه اخیر با هدف بررسی پلی‌مورفیسم Arg399Gln ژن *XRCC1* و ناباروری ایدیوپاتیک مردان در گیلان انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مورد-شاهدی، نمونه‌های خون ۱۴۴ مرد مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک مراجعه کننده به بخش ناباروری بیمارستان الزهرا رشت جمع‌آوری شد. هم‌چنین ۱۶۶ مرد سالم با توزیع سنی مشابه با گروه بیمار با داشتن حداقل دو فرزند انتخاب شدند. بیماران سابقه حداقل دو سال ناباروری داشتند، به نحوی که همسرانشان با تأیید پزشک متخصص زنان به هیچ بیماری که منجر به ناباروری شود مبتلا نبودند. سه تا چهار روز پس از پرهیز جنسی حداقل سه تست مایع منی صورت گرفت تا وضعیت ناباروری آن‌ها

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 15:44 +0330 on Monday January 22nd 2018

مشخص گردد. اسپرموگرام بر اساس راهنمای سازمان بهداشت جهانی (WHO) انجام شد. در تمام مردان مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک، سرم استرادیول (E2)، توستوسترون (T)، پرولاکتین (PRL)، هورمون لوتئینیزه‌کننده (LH) و هورمون محرک فولیکول (FSH) اندازه‌گیری شد. در این تحقیق نمونه‌های مبتلا به آزواسپرمی، مصرف دارو، عفونت مایع منی، واریکوسل، بیماری‌های سیستمیک، سابقه التهاب بیضه، حضور آنتی بادی‌ها علیه اسپرم، هیپوگنادیسم هیپوتروفیک حذف شدند. دامنه‌ی سنی گروه بیمار ۲۹ تا ۴۸ سال و گروه شاهد ۲۷ تا ۴۹ سال بود. از تمام داوطلبان شرکت‌کننده، رضایت‌نامه آگاهانه کتبی (کد: ۲۲-۵-۹۲) گرفته شد. نمونه‌ها در فاصله زمانی ۱۷ ماه، از تیر ماه ۱۳۹۲ تا آبان ماه ۱۳۹۳ جمع‌آوری شدند. پس از شناسایی افراد سالم و بیمار ۱ میلی‌لیتر خون محیطی از آن‌ها دریافت شد. نمونه‌ها جهت محفوظ ماندن از انعقاد تا زمان استخراج در لوله‌های استریل حاوی EDTA و در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند. فرآیند استخراج DNA با بهره‌گیری از کیت محلول GPP(شرکت ژن پژوهان، ایران) و براساس دستورالعمل مربوطه صورت پذیرفت. کیفیت باندهای حاصل از DNA استخراج شده از طریق الکتروفورز آگارز مورد بررسی قرار گرفت. تعیین ژنوتیپ‌ها به کمک تکنیک واکنش زنجیره ای پلی مراز- پلی مورفیسم طولی قطعه محدود (PCR- RFLP) صورت گرفت. به منظور تکثیر ژن *XRCC1* از یک جفت پرایمر اختصاصی استفاده گردید. خصوصیات پرایمرها به همراه ویژگی آنزیم مورد نیاز در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱. پرایمرها و آنزیم به کار گرفته شده برای تعیین ژنوتیپ XRCC1 Arg399Gln

گونه (NCBI SNP Cluster ID)	پرایمر	آنیلینگ	آنزیم محدودیت
Arg399Gln (rs25487)	F: 5′ CTGTGCCTTTGCCAACACC 3′ R: 5′CCCGCTCCTCTCAGTAGTCT 3′	52.7°C, 45 sec	*HpaII*, 37°C, 4 h

برنامه PCR با واسرشت سازی اولیه ۵ دقیقه‌ای در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۵ سیکل با برنامه ۹۴ درجه سانتی‌گراد(۴۵ ثانیه)، ۵۲/۷ درجه سانتی‌گراد(۴۵ ثانیه)، ۷۲ درجه سانتی‌گراد(۴۵ ثانیه) و در انتها ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه در دستگاه ترموسایکلر ۴۸ چاهکی (محصول شرکت بیوراد، انگلستان) تنظیم شد. طی فرایند PCR قطعه‌ای به طول ۲۵۷ جفت باز حاوی ناحیه پلی‌مورفیک ژن *XRCC1* تکثیر می‌شد. در مرحله بعد محصول PCR تحت تأثیر هضم آنزیمی با آنزیم محدودکننده *HpaII* (شرکت فرمنتاز، لیتوانی) قرار گرفت. جایگاه شناسایی و برش این آنزیم شامل توالی ۴ جفت بازی (5′- CCGG-3′) می‌باشد. جهت شناسایی محصولات حاصل از RFLP، از ژل آگارز ۲ درصد آغشته به اتیدیوم بروماید استفاده گردید. در افراد هموزیگوت Arg/Arg، به علت حضور جایگاه شناسایی آنزیم *HpaII*، دو باند به طول ۱۱۲ و ۱۴۵ جفت باز ایجاد خواهد شد. در افراد هموزیگوت Gln/Gln به علت عدم حضور جایگاه شناسایی، قطعه ۲۵۷ جفت بازی حاصل از PCR بدون برش باقی خواهد ماند. بدیهی است که در افراد هتروزیگوت Arg/Gln سه باند ۱۱۲، ۱۴۵ و ۲۵۷ جفت بازی دیده خواهد شد.

در این تحقیق، آزمون‌های آماری کای مربع (X نسبت علامت کای مربع است) و نسبت شانس (OR) با استفاده از نرم افزار مدکالک (نسخه ۱۲/۱، بلژیک) انجام گرفت و هم‌چنین پارامترهایی مانند p و بازه اطمینان نیز تعیین شد. مقدار p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

DNA ژنومی تمامی افراد مورد مطالعه استخراج شد. در مرحله بعد، ژنوتیپ افراد به روش RFLP-PCR تعیین گردید. شکل ۱ و ۲ به ترتیب تصاویر حاصل از PCR و واکنش RFLP را نشان می‌دهند. پس از تعیین ژنوتیپ افراد بیمار و شاهد، توزیع ژنوتیپی هر سه نوع ژنوتیپ بین دو گروه با هم مقایسه شد. از ۱۴۴ مرد مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک، ۲۱ نفر (۱۴/۵۸ درصد) دارای ژنوتیپ

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 15:44 +0330 on Monday January 22nd 2018

Arg/Arg، ۱۰۵ نفر (۷۲/۹۲ درصد) دارای ژنوتیپ Arg/Gln و ۱۸ نفر (۱۲/۵۰ درصد) دارای ژنوتیپ Gln/Gln بودند. فراوانی این سه ژنوتیپ در گروه شاهد به ترتیب شامل ۶۸ نفر (۴۰/۹۶ درصد)، ۸۱ نفر (۴۸/۸۰ درصد) و ۱۷ نفر (۱۰/۲۴ درصد) بود. جهت بررسی تفاوت فراوانی ژنوتیپی بین گروه کنترل و بیمار از آزمون کای مربع استفاده شد. مقدار آن با سطح معنی‌دار p<۰/۰۰۰۱ برابر با ۲۶/۵۱ به دست آمد. بنابراین، از آن‌جا که مقدار p کمتر از ۰/۰۵ می‌باشد، تفاوت معنی‌داری در توزیع ژنوتیپی پلی‌مورفیسم Arg399Gln در دو گروه بیمار و شاهد مشاهده شد. سپس با انجام آزمون OR مشخص شد که ژنوتیپ‌های Arg/Gln و Gln/Gln به ترتیب به میزان ۴/۱۹ و ۳/۴۲ خطر ابتلا به ناباروری را افزایش می‌دهند. آنالیز ترکیبی این دو ژنوتیپ نیز ثابت نمود که وجود حداقل یک آلل Gln می‌تواند خطر بروز ناباروری را افزایش دهد (p<۰/۰۰۰۱ ، ۷/۰۹-۲/۳۲= CI برابر با ۹۵ درصد؛OR=۴/۰۶)(جدول ۲). در افراد بیمار و شاهد، فراوانی آلل Arg به ترتیب ۰/۵۱ و ۰/۶۵ و فراوانی آلل Gln به ترتیب ۰/۴۹ و ۰/۳۵ بود. تفاوت توزیع آللی در دو گروه برابر با χ^2 =۱۲/۴۶ بود و سطح معنی‌داری برابر با p=۰/۰۰۰۴ محاسبه گردید. بنابراین تفاوت معنی‌داری در فراوانی آللی بین دو گروه مورد بررسی نیز دیده شد.

جدول ۲. فراوانی ژنوتیپی و آللی پلی‌مورفیسم XRCC1 Arg399Gln بین دو گروه شاهد و بیمار و ارتباط آن با ناباروری ایدیوپاتیک مردان

ژنوتیپ و آلل	تعداد شاهد (٪)	تعداد بیمار (٪)	OR* (95%CI**)	p
ژنوتیپ				
Arg/Arg	۶۸ (٪۴۰/۹۶)	۲۱ (٪۱۴/۵۸)	Ref (۰/۰)	-
Arg/Gln	۸۱ (٪۴۸/۸۰)	۱۰۵ (٪۷۲/۹۲)	۴/۱۹ (۲/۳۷-۷/۴۱)	<۰/۰۰۰۱
Gln/Gln	۱۷ (٪۱۰/۲۴)	۱۸ (٪۱۲/۵۰)	۳/۴۲ (۱/۵۰-۷/۸۱)	۰/۰۰۳۴
Arg/Gln+ Gln/Gln	۴۹ (٪۲۹/۵۱)	۷۸ (٪۵۴/۱۶)	۴/۰۶ (۲/۳۲-۷/۰۹)	<۰/۰۰۰۱
آلل				
Arg	۰/۶۵	۰/۵۱	Ref (۰/۰)	-
Gln	۰/۳۵	۰/۴۹	۱/۸۰ (۱/۳۱-۲/۵۰)	۰/۰۰۰۳

***OR: نسبت شانس، **CI: بازه اطمینان**

بحث

در این مطالعه، به بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم Arg399Gln ژن *XRCC1* با احتمال افزایش خطر بروز ناباروری ایدیوپاتیک مردان در گیلان پرداخته شد. نتایج این تحقیق نشان داد که ژنوتیپ‌های Arg/Gln و Gln/Gln در مقایسه با ژنوتیپ Arg/Arg به شکل معنی‌داری در جمعیت مردان مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک بیشتر از گروه شاهد بودند. ازطرفی فراوانی آلل Gln در بیماران ۰/۴۹ و در افراد سالم ۰/۳۵ بود. به عبارتی آلل Gln در جمعیت بیمار به عنوان یک فاکتور خطر برای ناباروری ایدیوپاتیک مردان به حساب می‌آید(p=۰/۰۰۰۴).

بیش از نیمی از دلایل ناباروری مردان ناشناخته است و تخمین زده می‌شود که علت عمده آن مربوط به نواقص ژنتیکی باشد(۱۷). به علاوه پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی نیز از جمله فاکتورهایی هستند که می‌توانند منجر به بروز برخی از انواع ناباروری شوند(۱۸، ۱۹). از طرفی، بیضه‌ها طی اسپرم‌زایی سطوح بالایی از گونه‌های اکسیژن فعال تولید می‌کنند که منجر به آسیب‌دیدگی DNA اسپرم می‌شود(۲۰). به علاوه استفاده از ترکیبات شیمیایی صنعتی و کشاورزی و برخی داروها نیز ممکن است موجب آسیب‌دیدن DNA در جریان اسپرم‌زایی شوند. بنابراین کاهش ظرفیت ترمیم DNA احتمالا موجب کاهش در تعداد و کیفیت اسپرم‌ها می‌شود(۲۱). علی‌رغم این که صحت سیستم‌های ترمیم DNA طی اسپرم‌زایی طبیعی اجتناب ناپذیر است، تاکنون مطالعات اندکی ارتباط پلی‌مورفیسم‌های ژن‌های ترمیم کننده DNA با ناباروری مردان را گزارش نموده‌اند.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 15:44 +0330 on Monday January 22nd 2018

XRCC1 به عنوان یک ژن ضروری در مسیر BER نقشی کلیدی در ترمیم شکست تک رشته DNA طی مرحله‌ی نوترکیبی در فرایند اسپرم‌زایی ایفا می‌کند. بیان این ژن در سلول‌های بیضه بسیار زیاد است که حاکی از اهمیت آن در حفظ صحت فرایند اسپرم‌زایی است(۱۶). نتایج حاصل از مطالعات کیو و موریموتو نشان داد که پلی‌مورفیسم‌های عملکردی ژن *XRCC1* بر ظرفیت ترمیمی این ژن اثرگذار بوده و نقش مهمی در ایجاد زمینه ابتلا به انواع بیماری‌ها دارند(۱۵). پلی‌مورفیسم Arg399Gln در دومین BRCT1 که محل اتصال به پروتئین PARP است، قرار دارد. پروتئین PARP برای ترمیم شکست تک رشته DNA (SSB) ضروری است(۲۲). پلی‌مورفیسم Arg399Gln ساختار دوم *XRCC1* را تغییر می‌دهد، به همین دلیل یک پلی‌مورفیسم مهم ژن *XRCC1* محسوب می‌شود که می‌تواند بر ظرفیت ترمیم DNA اثر گذارد(۲۳).

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان می‌دهد که پلی‌مورفیسم Arg399Gln ژن *XRCC1* با ناباروری ایدیوپاتیک مردان در جمعیت مورد مطالعه مرتبط است. تا کنون مطالعات محدودی درخصوص اهمیت پلی‌مورفیسم با ناباروری ایدیوپاتیک مردان در دنیا صورت گرفته است. نتایج این تحقیق با نتایج بررسی دیگری که ژنگ و همکاران در سال ۲۰۱۲ بر روی ارتباط این پلی‌مورفیسم با آزوسپرمی ایدیوپاتیک مردان در چین انجام دادند، مطابقت دارد (p=۰/۰۰۵، CI=۱/۲۴۵-۳/۶۰ برابر با ۹۵ درصد، OR=۲/۱۱)(۱۲). در مطالعه‌ی گو و همکاران در سال ۲۰۰۷، فراوانی ژنوتیپ Gln/Gln بسیار کم بود (۲/۹۲ درصد در گروه شاهد و ۸/۵ درصد در مردان آزوسپرم ایدیوپاتیک) که حاکی از تفاوت پراکندگی ژنوتیپی Arg399Gln در قومیت‌های مختلف بود(۱۶).

با توجه به تأثیر فاکتورهای ژنتیکی و محیطی در بروز ناباروری، نقش سایر پلی‌مورفیسم‌های این ژن، سایر ژن‌های دخیل در روند ترمیم DNA و عوامل محیطی در ایجاد و پیشرفت بیماری ناباروری ایدیوپاتیک مردان باید به دقت بررسی شود. از سویی نتایج به دست آمده ممکن است با تغییر اندازه جمعیت تغییر کند. از این رو، به منظور ارزیابی دقیق‌تر نقش این پلی‌مورفیسم در ناباروری ایدیوپاتیک مردان، مطالعات بیشتر و بررسی جمعیت‌های بزرگ‌تر و اقوام گوناگون ضروری است.

نتیجه‌گیری

در مجموع، در جمعیت مورد بررسی که شامل ۳۱۰ نفر از مردان سالم و مبتلایان به ناباروری ایدیوپاتیک مردان بود، ژنوتیپ‌های Arg/Gln و Gln/Gln زمینه‌ساز افزایش خطر ابتلا به ناباروری ایدیوپاتیک مردان بودند. از این رو، آلل Gln به عنوان یک فاکتور خطر ناباروری ایدیوپاتیک مردان در جمعیت مورد بررسی پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد سمیرا مرزبند، دانشجوی رشته بیولوژی سلولی تکوینی دانشگاه گیلان می‌باشد. بدین وسیله نویسندگان از حمایت‌های اداره تحصیلات تکمیلی دانشگاه گیلان به دلیل تکمیل بخشی از پروژه و هم‌چنین از تمامی بیماران و افراد سالم شرکت کننده در این تحقیق سپاس‌گزاری می‌نمایند.

منابع

1. Huynh T, Mollard R, Trounson A. Selected genetic factors associated with male infertility. Human Reproduction Update. 2002;8(2):183-98.
2. Zhang J, Qiu SD, Li SB, Zhou DX, Tian H, Huo YW, et al. Novel mutations in ubiquitin□specific protease 26 gene might cause spermatogenesis impairment and male infertility. Asian Journal of Andrology. 2007;9(6):809-14.
3. Karimian M, Colagar AH. Association of C677T transition of the human methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene with male infertility. Reproduction, Fertility and Development. 2014.
4. Yang Y, Xiao CY, Zhang SZ, Li X, Zhang SX. DAZ1/DAZ2 cluster deletion mediated by gr/gr recombination per se may not be sufficient for spermatogenesis impairment: a study of

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 15:44 +0330 on Monday January 22nd 2018

Chinese normozoospermic men. Asian Journal of Andrology. 2006;8(2):183-7.
5. Hsia K-T, Millar MR, King S, Selfridge J, Redhead NJ, Melton DW, et al. DNA repair gene Ercc1 is essential for normal spermatogenesis and oogenesis and for functional integrity of germ cell DNA in the mouse. Development. 2003;130(2):369-78.
6. Setlow R. Variations in DNA repair among humans. Human carcinogenesis. 1983:231-54.
7. O'Brien KLF, Varghese AC, Agarwal A. The genetic causes of male factor infertility: a review. Fertility and sterility. 2010;93(1):1-12.
8. Ahmed EA, de Boer P, Philippens ME, Kal HB, de Rooij DG. Parp1–XRCC1 and the repair of DNA double strand breaks in mouse round spermatids. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. 2010;683(1):84-90.
9. Caldecott KW, Tucker JD, Stanker LH, Thompson LH. Characterization of the XRCC1-DNA ligase III complex in vitro and its absence from mutant hamster cells. Nucleic acids research. 1995;23(23):4836-43.
10. Langsenlehner T, Renner W, Gerger A, Hofmann G, Thurner E-M, Kapp KS, et al. Association between single nucleotide polymorphisms in the gene for XRCC1 and radiation-induced late toxicity in prostate cancer patients. Radiotherapy and Oncology. 2011; 98(3): 387-93.
11. Caldecott KW, Aoufouchi S, Johnson P, Shall S. XRCC1 polypeptide interacts with DNA polymerase β and possibly poly (ADP-ribose) polymerase, and DNA ligase III is a novel molecular 'nick-sensor'in vitro. Nucleic acids research. 1996;24(22):4387-94.
12. Zheng L-r, Wang X-f, Zhou D-x, Zhang J, Huo Y-w, Tian H. Association between XRCC1 single-nucleotide polymorphisms and infertility with idiopathic azoospermia in northern Chinese Han males. Reproductive biomedicine online. 2012;25(4):402-7.
13. Saadat M, Kohan L, Omidvari S. Genetic polymorphisms of XRCC1 (codon 399) and susceptibility to breast cancer in Iranian women, a case–control study. Breast cancer research and treatment. 2008;111(3):549-53.
14. Sreeja L, Syamala VS, Syamala V, Hariharan S, Raveendran PB, Vijayalekshmi R, et al. Prognostic importance of DNA repair gene polymorphisms of XRCC1 Arg399Gln and XPD Lys751Gln in lung cancer patients from India. Journal of cancer research and clinical oncology. 2008;134(6):645-52.
15. Qu T, Morimoto K. X-ray repair cross-complementing group 1 polymorphisms and cancer risks in Asian populations: a mini review. Cancer detection and prevention. 2005; 29(3): 215-20.
16. Gu AH, Liang J, Lu NX, Wu B, Xia YK, Lu CC, et al. Association of XRCC1 gene polymorphisms with idiopathic azoospermia in a Chinese population. Asian Journal of Andrology. 2007;9(6):781-6.
17. Matzuk MM, Lamb DJ. Genetic dissection of mammalian fertility pathways. Translocations. 2002; 45:46-7.
18. Yang Y, Zhang SZ, Li N, Zhang W. Single nucleotide polymorphism C677T in the methylenete□trahydrofolate reductase gene might be a genetic risk factor for infertility for Chinese men with azoospermia or severe oligozoospermia. Asian Journal of Andrology. 2007; 9(1): 57-62.
19. Singh R, Singh L, Thangaraj K. Phenotypic heterogeneity of mutations in androgen receptor gene. Asian Journal of Andrology. 2007; 9(2): 147-79.
20. Yu B, Ding Q, Zheng T, Jiang L, Li Q, Sun X, et al. Smoking attenuated the association between IκBα rs696 polymorphism and defective spermatogenesis in humans. Andrologia. 2014.
21. Maduro M, Casella R, Kim E, Levy N, Niederberger C, Lipshultz L, et al. Microsatellite instability and defects in mismatch repair proteins: a new aetiology for Sertoli cell□only syndrome. Molecular human reproduction. 2003;9(2):61-8.
22. Lunn RM, Langlois RG, Hsieh LL, Thompson CL, Bell DA. XRCC1 polymorphisms: effects on aflatoxin B1-DNA adducts and glycophorin A variant frequency. Cancer research. 1999; 59(11):2557-61.
23. Monaco R, Rosal R, Dolan MA, Pincus MR, Brandt-Rauf PW. Conformational effects of a common codon 399 polymorphism on the BRCT1 domain of the XRCC1 protein. The protein journal. 2007; 26(8): 541-6.