Original Article

Association of -308G/A TNFα gene polymorphism with reduced risk of idiopathic infertility in men

Zamani-Badi T[1], Nikzad H[1], Rafatmanesh A[1], Rezazadeh-Lavaf Z[1], Karimian M[2*]

1- Gametogenesis Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I.R. Iran.
2- Department of Molecular and Cell Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, I.R. Iran.

Received: 2021/09/8 | Accepted: 2022/02/13

Abstract:

Background: Infertility is one of the major health problems in the world and several factors play a role in the occurrence of this complication. One of the causes of idiopathic male infertility is a defect in the process of spermatogenesis due to genetic changes in cytokines involved in this process. Tumor Necrosis Factor-alpha (TNFα) as a multifunctional cytokine controls spermatogenesis-related cellular activity. In this study, the association of -308G/A polymorphism in the TNFα gene with male infertility was investigated.
Materials and Methods: In a case-control study, blood samples were collected from 82 infertile men and 107 fertile men. After DNA extraction, the genotype of the samples at the -308G/A region was determined using the PCR-RFLP technique.
Results: Data analysis showed a significant association between GA genotype and reduced risk of male infertility. Also, in the subgroup study, a significant association was observed between this genotype and the reduction of oligozoospermia and asthenozoospermia risk. Similar results were found for the association of carriers of allele A (GA + AA) and idiopathic male infertility. In addition, the allelic analysis showed a significant association between allele and a reduced risk of idiopathic male infertility. Subgroup analysis showed a significant association between this allele and reduced risk of asthenozoospermia, also.
Conclusion: Based on findings of this research, the TNFα -308G/A polymorphism can be considered as a protective factor and a potential biomarker for idiopathic male infertility.

Keywords: Male infertility, -308G/A polymorphism, TNFα gene, Cytokine, PCR-RFLP

***Corresponding Author**
Email: mdkarimian@gmail.com
Tel: 0098 113 530 2452
Fax: 0098 113 530 2452

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, April, 2022; Vol. 26, No 1, Pages 75-81

Please cite this article as: Zamani-Badi T, Nikzad H, Rafatmanesh A, Rezazadeh-Lavaf Z, Karimian M. Association of -308G/A TNFα gene polymorphism with reduced risk of idiopathic infertility in men. ***Feyz*** 2022; 26(1): 75-81.

بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم 308G/A- ژن TNFα با کاهش خطر ناباروری ایدیوپاتیک در مردان

طیبه زمانی‌بادی [۱]، حسین نیک‌زاد [۱]، عطیه رفعت‌منش [۱]، زینب رضازاده لوّاف [۱]، محمّد کریمیان [۲*]

خلاصه:

سابقه و هدف: ناباروری به‌عنوان یکی از مشکلات اساسی حوزه سلامت در جهان مطرح است که عوامل متعددی در بروز این عارضه نقش دارند. از دلایل بروز ناباروری ایدیوپاتیک مردان، می‌توان به نقص در فرآیند اسپرماتوژنز به‌علت وقوع عوامل ژنتیکی در سیتوکین‌های مؤثر در این پروسه اشاره کرد. فاکتور نکروزدهنده تومور آلفا (TNFα) به‌عنوان سیتوکین چندعملکردی، فعالیت‌های سلولی مرتبط با اسپرماتوژنز را کنترل می‌کند. در این مطالعه، ارتباط پلی‌مورفیسم 308G/A- در ژن TNFα با ناباروری مردان بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در یک مطالعه مورد – شاهدی، نمونه‌های خون از ۸۲ مرد نابارور و ۱۰۷ مرد بارور جمع‌آوری شد. بعد از استخراج DNA، ژنوتیپ نمونه‌ها در محلّ پلی‌مورفیسم 308G/A- با استفاده از تکنیک PCR-RFLP تعیین شد.

نتایج: آنالیز داده‌ها ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ GA با کاهش ریسک ناباروری مردان نشان داد. همچنین در مطالعه زیرگروهی ارتباط معنی‌داری بین این ژنوتیپ و کاهش ریسک الیگوزواسپرمی و همچنین آستنوسپرمی مشاهده شد. نتایج مشابهی درمورد ارتباط حاملان آلل A (GA+AA) و ناباروری ایدیوپاتیک مردان یافت شد. علاوه‌بر این، تجزیه‌وتحلیل آللی ارتباط معنی‌داری بین آلل A با کاهش ریسک ناباروری ایدیوپاتیک را نشان داد. آنالیز زیرگروهی هم ارتباط معنی‌داری بین این آلل و کاهش ریسک آستنوسپرمی را نشان داد.

نتیجه‌گیری: براساس یافته‌های این تحقیق، پلی‌مورفیسم 308G/A- TNFα می‌تواند به‌عنوان یک فاکتور محافظتی و یک نشانگر زیستی بالقوه برای ناباروری ایدیوپاتیک مردان در نظر گرفته شود.

واژگان کلیدی: ناباروری مردان، پلی‌مورفیسم 308G/A-، ژن TNFα، سیتوکین، PCR-RFLP

دو ماه‌نامه علمی – پژوهشی فیض، دوره بیست و ششم، شماره ۱، فروردین – اردیبهشت ۱۴۰۱، صفحات ۸۱-۷۵

مقدمه

ناباروری به‌عنوان یک مشکل چندعاملی بوده که حدود ۱۵ درصد از زوجین را در سطح جهان تحت‌تأثیر قرار می‌دهد. در بروز ناباروری عوامل گوناگونی ازجمله فاکتورهای آناتومیکی، محیطی، شیوه زندگی، فیزیولوژیکی و ژنتیکی می‌توانند تأثیرگذار باشند [۲،۱]. ناباروری مردان یک بیماری شایع است که تقریباً ۵ درصد مردان را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد [۳]. در بین علل متعدد ناباروری مردان ازجمله انسداد پست تستیکولار، واریکوسل، تولید آنتی‌بادی ضداسپرم و اختلالات هورمونی، عوامل ژنتیکی به‌عنوان مهم‌ترین دلایل در نظر گرفته می‌شوند [۵،۴]. نشان داده شده است که عوامل ژنتیکی شامل آنوپلوئیدی‌ها، ریزحذف‌های کروموزم Y، ناهنجاری‌های DNA میتوکندری، جهش‌های نقطه‌ای و پلی‌مورفیسم در ژن‌های کلیدی دخیل در اسپرماتوژنز می‌توانند خطر ناباروری مردان را افزایش دهند [۷،۶].

سیتوکین‌ها به‌عنوان پروتئین‌های چندعملکردی و فاکتورهای رشد پاراکرین – اتوکرین در تکامل و عملکرد بیضه نقش دارند. حضور آن‌ها در محیط گناد برای تکثیر، تمایز، تقسیم و مهاجرت سلول‌های زایا در طول فرآیند اسپرماتوژنز ضروری است. آن‌ها همچنین سبب حفظ تعادل و برقراری هومئوستاز بیضه‌ای می‌گردند [۸]. سیتوکین‌ها نقش کلیدی در ارتباطات بین سلولی، تنظیم استروئیدوژنز و تنظیم سیستم ایمنی با عملکرد برروی سلول‌های ایمنی بدن دارند. ازطرفی در پاتوفیزیولوژی و اثرات مخرب پاسخ‌های التهابی بر عملکرد بیضه نیز نقش دارند [۹]. در محیط بیضه سالم، سلول‌های زایا به دور از اثرات تخریبی ناشی از التهاب و عفونت و با برقراری تعادل ازطریق سلول‌های ایمنی و سیتوکین‌های ترشح‌شده از آن‌ها و جمعیت متفاوت سلولی، تکامل می‌یابند و اسپرماتوزوای نرمال تولید می‌کنند [۱۰]. سیتوکین‌ها به‌صورت فیزیولوژیک و طبیعی در مایع منی وجود دارند [۱۱]. هرگونه تغییر ازجمله وجود پلی‌مورفیسم در ژن‌های مربوط به سیتوکین‌ها، می‌تواند روند انجام طبیعی اسپرماتوژنز را مختل کرده، منجر به ناباروری شود. بدین‌صورت که اختلال در عملکرد، ساختار و تولید سیتوکین‌ها سبب عدم تعادل و از هم گسستگی غشا و آسیب به DNA و درنهایت مرگ سلولی شده که با کاهش تعداد و حرکت اسپرم ارتباط مستقیمی دارد [۱۲]. مطالعات قبلی نشان داد که پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی در برخی از خانواده‌های

۱. مرکز تحقیقات گامتوژنزیس، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۲. گروه زیست‌شناسی مولکولی و سلولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

* **نشانی نویسنده مسؤول:**

گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

تلفن: ۰۱۱۳۵۳۰۲۴۵۰ **دورنویس:** ۰۱۱۳۵۳۰۲۴۵۰

پست الکترونیک: mdkarimian@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۶/۱۷ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۱۴۰۰/۱۱/۲۴

ژنی سیتوکین‌ها ازجمله: IL1α، IL1β و IL1RA با امکان بروز ناباروری در مردان ارتباط دارند [۱۵-۱۳]. فاکتور نکروزدهنده تومور آلفا (TNFα) یکی دیگر از اعضای خانواده بزرگ سیتوکین است که از مونوسیت‌ها مشتق شده است. این فاکتور به‌عنوان سیتوکین پیش‌التهابی، یک پروتئین چندمنظوره است که در تنظیم چندین عملکرد بیولوژیکی مربوط به اسپرماتوژنز نقش دارد. به‌عنوان مثال، در تحرک و ظرفیت عملکردی اسپرم نقش کلیدی دارد. علاوه‌بر این، گیرنده‌های TNFα در سلول‌های بیضه، سرتولی و لیدیگ وجود دارند که می‌توانند ترشح این سلول‌ها را تنظیم کنند. نشان داده شده است که سطح بالای TNFα در مردان نابارور با کاهش تحرک پیش‌رونده اسپرم ارتباط دارد [۱۹-۱۶]. چندین پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی (SNP) در منطقه پروموتر TNFα مانند -1031T/C, -863C/A, -857C/T, -575G/A -376G/A, -244G/A, -238G/A, -308G/A موردمطالعه قرار گرفته‌اند [۲۰]. در بین این تغییرات، پلی‌مورفیسم 308G/A- ممکن است در تغییر ریسک ناباروری مردان اثرگذار باشد [۲۱]. هدف از این مطالعه، بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی TNFα -308G/A (rs1800629) با خطر ناباروری ایدیوپاتیک مردان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این مقاله مستخرج از طرح شماره ۹۴۰۵۸ مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان می‌باشد.

جمع‌آوری و غربالگری نمونه‌ها

این مطالعه توسط کمیته اخلاق زیستی دانشگاه علوم پزشکی کاشان تأیید شد (IR.KAUMS.REC.1394.58). پس از کسب رضایت آگاهانه، در مجموع ۱۸۹ نفر در این مطالعه ثبت‌نام شدند. ۸۲ مرد نابارور از بین مراجعه‌کنندگان به مرکز ناباروری کاشان (بیمارستان شهید بهشتی) انتخاب شدند. آن‌ها هیچ شواهدی از سایر بیماری‌های مرتبط با ناباروری مانند سرطان پروستات، کریپتورکیدیسم، واریکوسل، دیابت، عفونت‌های بیضوی یا ناهنجاری‌های کاریوتیپ نشان ندادند. گروه کنترل شامل ۱۰۷ شخص با باروری تأییدشده بودند که حداقل یک فرزند داشتند. پس از غربالگری افراد، ۲ میلی‌لیتر خون از هر شرکت‌کننده جمع‌آوری شد. براساس معیارهای سازمان بهداشت جهانی ۲۰۱۰ (WHO, 0) بیماران به سه زیر گروه تقسیم شدند: (i) آزواسپرمی غیر انسدادی (۸ نفر)، (ii) الیگوزواسپرمی (۲۵ نفر) و (iii) آستنوزواسپرمی (۴۹ نفر).

استخراج DNA و تجزیه‌وتحلیل ژنوتیپ

ژنوم سلول‌های خونی از نمونه‌های گروه کنترل و بیمار توسط کیت استخراج DNA (شرکت Bionner، Daejeon، کشور کره جنوبی) جدا شد. پلی‌مورفیسم TNFα -308G/A بااستفاده از روش PCR-RFLP تعیین ژنوتیپ شد. به این‌منظور، پرایمرهای اختصاصی در اطراف منطقه پلی‌مورفیک توسط نرم‌افزار Oligo7 طراحی شدند. توالی پرایمرهای فوروارد و ریورس برای پلی‌مورفیسم TNFα در جدول شماره ۱ ارائه شده است. واکنش PCR در حجم کلّ ۲۰ میکرولیتر و با مواد و برنامه ارائه‌شده در جدول شماره ۱ انجام شد. ۵ میکرولیتر از محصولات PCR با میزان ۰،۲ واحد آنزیم محدودکننده NcoI (#ER0575 - Thermo Scientific, Lot: 00449068) ازطریق انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه تیمار شدند. درنهایت، آنزیم با انکوباسیون در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه غیرفعال شد. قطعات هضم‌شده TNFα توسط الکتروفورز ژل پلی‌اکریل آمید ۸ درصد جدا شدند. برای تأیید نتایج PCR-RFLP، برخی از نمونه‌ها به‌صورت تصادفی تعیین توالی شدند. تعیین توالی مستقیم محصول PCR خالص‌شده توسط شرکت Bioneer انجام شد.

تجزیه‌وتحلیل آماری

در این مطالعه مورد - شاهدی، تجزیه‌وتحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS 22 (SPSS Inc., Chicago, USA) انجام شد. برای تعیین تعادل هاردی - واینبرگ در فراوانی ژنوتیپ‌های مشاهده‌شده، از آزمون مجذور کای استفاده شد. تفاوت بین گروه نابارور و بارور به‌وسیله آزمون کای‌مربع به‌دست آمد. جهت بررسی میزان وابستگی پلی‌مورفیسم با ناباروری، Odd Ratio (OR) و 95 Confidence Interval (CI) درصد برای هریک از ژنوتیپ‌ها و توسط تست رگرسیون لوجستیک محاسبه شد. مقدار $P<۰/۰۵$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

داده‌های PCR-RFLP

نمونه‌های ژنومی استخراج‌شده از خون، باندهای سنگین با تحرک پایین را روی ژل آگارز نشان دادند. قطعات تکثیرشده حاوی پلی‌مورفیسم 308G/A- یک باند ۱۶۳ جفت بازی روی ژل آگارز را نشان دادند. قطعات هضم‌شده آنزیمی توسط الکتروفورز ژل پلی‌اکریل آمید ۸ درصد از هم جدا شدند. پس از الکتروفورز سه نوع نمونه با توجه به اندازه قطعات وجود داشت (شکل شماره ۱). برخی از نمونه‌ها دو قطعه (۱۴۳ و ۲۰ جفت باز) داشتند، بعضی از نمونه‌ها دارای سه قطعه (۱۶۳، ۱۴۳ و ۲۰ جفت باز) بودند و برخی دیگر دارای یک قطعه (۱۶۳ جفت باز) بودند. نمونه‌های دارای دو، سه و یک باند روی ژل اکریل آمید، به‌ترتیب به‌عنوان ژنوتیپ GG،

GA و AA شناسایی شدند. برای تأیید نتایج PCR-RFLP، برخی‌از نمونه‌ها به‌صورت تصادفی تعیین توالی شدند. نتایج حاصل از تعیین توالی، پروسه PCR-RFLP را تأیید کرد (شکل شماره ۲).

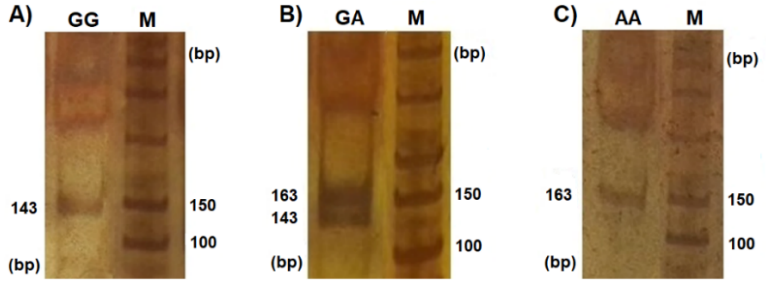
جدول شماره ۱- توالی پرایمر و شرایط PCR

ژن	SNP (شماره rs)	نام پرایمر	جهت الیگونوکلئوتید 5'–3'	محتویات PCR	برنامه PCR
TNFα	rs1800629	TNFα-F	AGGCAATAGGTTTTGAGGGCCA	۱۰ میکرولیتر پره‌میکس، ۰/۶ میکرومولار پرایمرهای فوروارد و ریورس، ۲/۵ میکرولیتر نمونه ژنومی	۹۴ درجه سانتی‌گراد (پنج دقیقه)؛ چهل چرخه شامل: ۹۴ درجه سانتی‌گراد (چهل و پنج ثانیه)، ۵۹ درجه سانتی‌گراد (چهل و پنج ثانیه)، ۷۲ درجه سانتی‌گراد (چهل و پنج ثانیه)، پایان چرخه: ۷۲ درجه سانتی‌گراد (پنج دقیقه)
		TNFα-R	GGGGATTTGGAAAGTTGGGGAC		

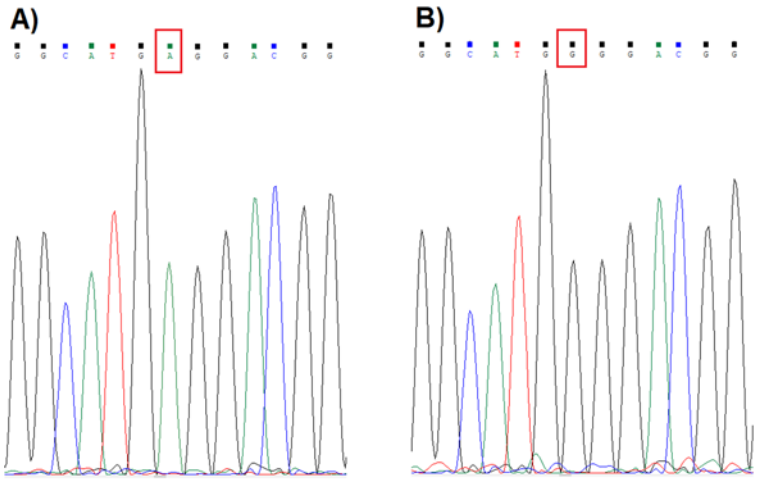
جدول شماره ۲- توزیع آلل و ژنوتیپ TNF-α -308G/A

آل/ژنوتیپ ل	تعداد و درصد				نسبت شانس (۹۵ درصد CI)			مقدار احتمال			
	گروه کنترل (n=۱۰۷)	کلّ نابارور (n=۸۲)	الیگوزوسپر می(n=۲۵)	آستنواسپرمی (n=۴۹)	آزواسپرمی (n=۸)	کل	الیگوزوسپرمی	آستنواسپرمی	آزواسپرمی	کل	الیگوزوسپرمی	آستنواسپرمی	آزواسپرمی
GG	۶۰ (۵۶/۰۷درصد)	۷۰ (۸۵/۳۷ (درصد	۲۰ (۸۰/۰۰ (درصد	۴۳ (۸۷/۷۶ (درصد	۷ (۸۷/۵۰ (درصد	-	-	-	-	-	-	-	-
GA	۴۵ (۴۲/۰۶ (درصد	۱۰ (۱۲/۲۰ (درصد	۳ (۱۲/۰۰ (درصد	۶ (۱۲/۲۴ (درصد	۱ (۱۲/۵۰ (درصد	۰/۱۹۰۵ (۰/۰۹-۰/۴۱)	۰/۲۰۰۰ (۰/۰۶-۰/۷۱)	۰/۱۸۶۰ (۰/۰۷-۰/۴۸)	۰/۱۹۰۵ (۰/۰۲-۱/۶۰)	< ۰/۰۰۰۱	۰/۰۱۳۳	۰/۰۰۰۴	۰/۱۲۷۲
AA	۲ (۰۱/۸۷ (درصد	۲ (۰۲/۴۴ (درصد	۲ (۰۸/۰۰ (درصد	۰ (۰۰/۰۰ (درصد	۰ (۰۰/۰۰ (درصد	۰/۸۵۷۱ (۰/۱۲-۶/۲۷)	۳/۰۰۰ (۰/۴۰-۲۲/۷۱)	۰/۲۷۸۲ (۰/۰۱-۵/۹۴)	۱/۶۱۳۳ (۰/۰۷ -۳۶/۹۰)	۰/۸۷۹۳	۰/۲۸۷۵	۰/۴۱۲۷	۰/۷۶۴۵
GA + AA	۴۷ (۴۳/۹۳ (درصد	۱۲ (۱۴/۶۳ (درصد	۵ (۲۰/۰۰ (درصد	۶ (۱۲/۲۴ (درصد	۱ (۱۲/۵۰ (درصد	۰/۲۱۸۸ (۰/۱۱-۰/۴۵)	۰/۳۱۹۱ (۰/۱۱-۰/۹۱)	۰/۱۷۸۱ (۰/۰۷ -۰/۴۵)	۰/۱۸۲۴ (۰/۰۲ -۱/۵۳)	< ۰/۰۰۰۱	۰/۰۳۳۳	۰/۰۰۰۳	۰/۱۱۷۳
G	۱۶۵ (۷۷/۱۰ (درصد	۱۵۰ (۹۱/۴۶ (درصد	۴۳ (۸۶/۰۰ (درصد	۹۲ (۹۳/۸۸ (درصد	۱۵ (۹۳/۷۵ (درصد	-	-	-	-	-	-	-	-
A	۴۹ (۲۲/۹۰ (درصد	۱۴ (۰۸/۵۴ (درصد	۷ (۱۴/۰۰ (درصد	۶ (۰۶/۱۲ (درصد	۱ (۰۶/۲۵ (درصد	۰/۳۱۴۳ (۰/۱۷-۰/۵۹)	۰/۵۴۸۲ (۰/۲۳-۱/۳۰)	۰/۲۱۹۶ (۰/۰۹ -۰/۵۳)	۰/۲۲۴۵ (۰/۰۳ -۱/۷۴)	۰/۰۰۰۳	۰/۱۷۰۷	۰/۰۰۰۸	۰/۱۵۳۰

الیگوزوسپرمی: تعداد اسپرم کمتر از ۲۰ میلیون در میلی‌لیتر؛ آستنواسپرمی: اسپرم با حرکت پیش‌رونده کمتر از ۵۰ درصد؛ آزواسپرمی: عدم وجود اسپرم در انزال؛ نسبت شانس (OR; Odds ratio)؛ نتایج معنی‌دار با فونت برجسته نشان داده شده است.



شکل شماره ۱- نتایج حاصل از تعیین ژنوتیپ پلی‌مورفیسم TNFα -308G/A. تصاویر a، b و c به‌ترتیب نشان‌دهنده ژنوتیپ‌های GG، GA و AA مربوط به پلی‌مورفیسم موردمطالعه می‌باشند. (M: مارکر DNA).



شکل شماره ۲- نتایج حاصل از تعیین توالی DNA در محلّ پلی‌مورفیسم TNFα -308G/A. توالی DNA اطراف ناحیه پلی‌مورفیک برای ژنوتیپ AA (A) و ژنوتیپ GG (B).

توزیع فراوانی ژنوتیپی و آللی

توزیع ژنوتیپ‌های TNFα -308G/A در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. این فراوانی‌ها در هر دو گروه بارور و نابارور از تعادل هاردی - واینبرگ پیروی می‌کرد. فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌های TNFα -308G/A در افراد نابارور و سالم در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. داده‌ها ارتباط معنی‌داری از ژنوتیپ GA با کاهش ریسک ناباروری مردان را نشان می‌دهند (P <۰/۰۰۱، ۰/۰۹-۰/۴۱= ۹۵ درصد CI، ۰/۱۹۰۵= OR) و در زیرگروه‌ها با کاهش ریسک فنوتیپ الیگوزوسپرمیا (P=۰/۰۱۳۳، ۰/۰۶- ۰/۷۱=۹۵ درصد CI، P=۰/۰۱۳۳) و آستنواسپرمیا (P=۰/۰۰۰۴، ۰/۰۷-۰/۴۸=۹۵ درصد CI، OR=۰/۱۸۶۰)، حاملان آلل A (GA+AA) با کاهش ریسک ناباروری (P <۰,۰۰۱، ۰/۱۱- ۰/۴۵=۹۵ درصد CI، OR=۰/۲۱۸۸)، الیگوزوسپرمیا (P=۰/۰۳۳۳، ۰/۱۱-۰/۹۱=۹۵ درصد CI، OR=۰/۳۱۹۱) و آستنواسپرمیا (P=۰/۰۰۰۳، ۰/۰۷-۰/۴۵= ۹۵ درصد CI، P=۰/۱۷۸۱) ارتباط معنی‌داری را نشان دادند. تجزیه‌وتحلیل آللی ارتباط معنی‌داری بین آلل A با کاهش ریسک ناباروری (P=۰/۰۰۰۳، ۰/۱۷-۰/۵۹=۹۵ درصد CI، OR =۰/۳۱۴۳) و آستنواسپرمیا (P=۰/۰۰۰۸، ۰/۵۳- ۰/۰۹= ۹۵ درصد CI، OR=۰/۲۱۹۶) را نشان داد.

بحث

ناباروری مردان به‌عنوان یک اختلال چندعاملی یکی از اصلی‌ترین مشکلات بهداشت عمومی جهانی محسوب می‌شود که انتظار می‌رود در سراسر جهان گسترش یابد. از ۳۰ تا ۴۰ درصد مردانی که مشکلات ناباروری دارند، ۱۰ تا ۲۰ درصد آن‌ها از آزواسپرمی و ۵۰ درصد آن‌ها از آستنوزواسپرمی و الیگواسپرمی رنج می‌برند [۲۳،۲۲،۲]. عوامل مختلفی، مانند عوامل آناتومیکی، محیطی و ژنتیکی در ناباروری نقش دارند [۲۱]. در این مطالعه، ما ارتباط پلی‌مورفیسم TNFα -308G/A را با ناباروری در گروهی از مردان کاشانی به‌عنوان یک مطالعه مورد - شاهدی که ممکن است خطر ناباروری را تغییر دهد، موردبررسی قرار دادیم. مطالعه ما نشان داد که در پلی‌مورفیسم TNFα -308G/A، ژنوتیپ GA و حاملان آلل A و آلل A با کاهش ریسک ناباروری مردان ارتباط داشتند. همچنین، در تجزیه‌وتحلیل زیرگروه‌ها ارتباط معنی‌داری بین GA و حاملان A با کاهش ریسک الیگوزوسپرمیا و آستنواسپرمیا و آلل A با کاهش ریسک آستنواسپرمیا وجود داشت. در مطالعه قبلی، شوکلا و همکارانش (۲۰۱۳) نشان دادند که پلی‌مورفیسم- TNFα 308G/A با ناباروری در مردان جمعیت شمال هند ارتباط دارد. در تجزیه‌وتحلیل زیرگروه‌ها، گزارش دادند که سطح آپوپتوز و نکروز در اولیگوزواسپرمی و آستنوسپرمی در مقایسه با گروه کنترل بیشتر بود. با این‌حال آن‌ها همچنین کاهش قابل‌توجهی در تستوسترون و هورمون لوتئینیزه با افزایش پرولاکتین و هورمون‌های محرک فولیکول در افراد نابارور مشاهده کردند [۲۱]. اسپرماتوژنز یک پروسه تکرارشونده است که در لوله‌های منی‌ساز رخ می‌دهد و به‌عنوان فرآیند اصلی تولید اسپرم‌های بالغ شناخته می‌شود. تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی در محیط بیضه به سمت تولید اسپرم بالغ توسط سیستم اتوکرین - پاراکرین تنظیم می‌شود. ازجمله آن‌ها می‌توان به هورمون لوتئینیزه (LH)، هورمون محرک فولیکول (FSH) و تستوسترون اشاره کرد. علاوه‌بر این موارد، فاکتورهای رشد و سیتوکین‌ها ازجمله فاکتورهای اتوکرین - پاراکرین بوده که در کنترل و تکامل اسپرماتوژنز نقش مهمّی ایفا می‌کنند [۲۴،۲۵]. سیتوکین‌های متعددی توسط سلول‌های موجود در محیط بیضه

ازجمله: ماکروفاژها، سلول لیدیگ و سرتولی ترشح شده، تأثیرات خود را اعمال می‌کنند. در بین این سیتوکین‌ها، TNFα به‌عنوان فاکتور پیش‌التهابی توسط سلول‌های سرتولی، ماکروفاژها، اسپرماتیدها و اسپرماتوسیت‌ها تولید می‌شود. برای این‌که TNFα عملکرد داشته باشد، لازم است به گیرنده‌های خود که در سطح سلول‌های سرتولی و لایدیگ هست، متصل شود. این پروتئین نقش مؤثری در آپوپتوز سلول‌های زایا، کنترل ترشح سلول‌های سرتولی و لیدیگ و کنترل اسپرماتوژنز دارد [۲۶]. با ترشح این پروتئین از سلول‌های زایا و سرتولی به‌واسطه نقش در متابولیسم لاکتات منبع انرژی لازم برای سلول‌های اسپرماتوگونی را تأمین می‌کند. از دیگر دلایلی که TNFα برای اسپرماتوژنز حائز اهمیت است، نقش آن در افزایش میزان تولید ترانسفرین ازطریق سلول‌های سرتولی است که بدین‌وسیله سلول‌های زایا می‌توانند آهن بیشتری مصرف کنند. علاوه‌بر این موارد، در عملکرد اتصالات محکم و تنظیمات مربوط به سدّ خونی – بیضه‌ای و در ترشح سیتوکین‌های مختلف در بیضه نقش دارد. این سیتوکین با افزایش میزان گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن (ROS)، می‌تواند باعث تحریک پراکسیداسیون اسپرم و کاهش تحرک اسپرم شود [۲۸،۲۷،۲۱]. در مطالعه‌ای نشان داده شده که TNFα می‌تواند در مدل موشی با التهاب مزمن سیستمیک و سپسیس مانع از بیان پروتئین استروئیدوژنیک سلول لیدیگ و استروئیدوژنز شود. ازطرفی تجویز TNFα برای مردان و جوندگان سالم باعث کاهش قابل‌توجهی در میزان تستوسترون سرمی و مهار بیان ژن آنزیم‌های استروئیدزا در مرحله رونویسی می‌شود. این سیتوکین می‌تواند با حفظ بقای سلول‌ها ازطریق اثرگذاری برروی گیرنده‌های آندروژنی و تنظیم فعالیت تستوسترون، تأثیر مثبتی بر روند اسپرماتوژنز بگذارد. از تأثیرات دیگری که TNFα بر روند اسپرماتوژنز دارد، می‌توان به حفظ بقای سلول‌های زایا، عملکرد ترشحی سلول سرتولی و لیدیگ، کاهش تولید تستوسترون، فرآیند استروئیدوژنز و اثر مستقیم بر حرکت اسپرم اشاره کرد [۲۹،۲۸]. وجود برخی نقاط پلی‌مورفیک در ژن TNFα می‌تواند سطح آن را افزایش داده، با القای تولید ROS، بر اسپرماتوژنز تأثیر منفی بگذارد [۲۱]. گونه‌های فعال اکسیژن تقریباً می‌تواند به میزان ۸۰-۳۰ درصد سبب آسیب به اسپرم شود. میزان زیاد ROS با اثرات مخرّب بر غشا، DNA و پروتئین‌های اسپرم، منجر به نقص در تعداد اسپرم، تحرک و تخریب ساختار اسپرم می‌شود [۳۰]. نتیجه این نقص‌ها ایجاد فنوتیپ‌های مختلف، مانند آزواسپرمی، الیگوزواسپرمی و آستنوزواسپرمی است [۳۱]. البته در این مطالعه اثرات محافظتی پلی‌مورفیسم TNFα -308G/A بر ناباروری مردان مشاهده شد. این نتیجه می‌تواند با اثر پلی‌مورفیسم فوق در تعدیل بیان TNFα توجیه شود.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج، پلی‌مورفیسم TNFα -308G/A یک فاکتور حفاظتی در برابر ناباروری مردان محسوب می‌شود. همچنین این فاکتور ژنتیکی می‌تواند فاکتور حفاظتی در مقابل فنوتیپ‌های مختلف ناباروری در نظر گرفته شود. در ادامه مطالعات قبلی انجام‌شده و بررسی اثرات پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی بر باروری مردان، در مطالعه کنونی نتیجه حاصل نشان داد که تمام جهش‌ها و پلی‌مورفیسم‌هایی که در ژن‌ها رخ می‌دهند، الزاماً سبب بروز نقص یا مشکل ژنتیکی خاصّی نخواهند شد، بلکه برخی از آن‌ها با بروز خود، حتی می‌توانند ریسک وقوع ناباروری را کاهش دهند. اما محدودیت‌هایی همچون عدم بررسی تعامل ژن – ژن و ژن – محیط، نتایج مطالعه را تحت‌تأثیر قرار می‌دهند. ازطرفی برای به‌دست آوردن داده‌های دقیق، ما به تعداد بیشتری از مردان نابارور و بارور از جمعیت‌های مختلف قومی نیاز داریم، زیرا مناطق نژاد می‌توانند بر نتایج اثرگذار باشند.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از طرح تحقیقاتی شماره ۹۴۰۵۸ تحت حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کاشان می‌باشد.

References:

[1] Ferlin A, Raicu F, Gatta V, Zuccarello D, Palka G, Foresta C. Male infertility: role of genetic background. ***Reprod Biomed Online*** 2007; 14(6): 734-45.

[2] Mobasseri N, Nikzad H, Karimian M. Protective effect of oestrogen receptor α-PvuII transition against idiopathic male infertility: a case-control study and meta-analysis. ***Reprod Biomed Online*** 2019; 38(4): 588-98.

[3] Barati E, Karimian M, Nikzad H. Oxidative stress markers in seminal plasma of idiopathic infertile men may be associated with glutathione S-transferase M1 and T1 null genotypes. ***Andrologia*** 2020; 52(9): e13703.

[4] Moghbelinejad S, Mozdarani H, Ghoraeian P, Asadi R. Basic and clinical genetic studies on male infertility in Iran during 2000-2016: A review. ***Int J Reprod Biomed*** 2018; 16(3): 131-48.

[5] Krausz C, Riera-Escamilla A. Genetics of male infertility. ***Nat Rev Urol*** 2018; 15(6): 369-84.
[6] Vogt PH. Molecular genetic of human male infertility: from genes to new therapeutic perspectives. ***Curr Pharm Des*** 2004; 10(5): 471-500.
[7] Karimian M, Babaei F. Large-scale mtDNA deletions as genetic biomarkers for susceptibility to male infertility: A systematic review and meta-analysis. ***Int J Biol Macromol*** 2020; 158: 85-93.
[8] Maleki BH, Tartibian B. Long-term low-to-intensive cycling training: impact on semen parameters and seminal cytokines. ***Clin J Sport Med*** 2015; 25(6): 535-40.
[9] Babinets LS, Migenko BO, Borovyk IO, Halabitska IM, Lobanets NV, Onyskiv OO. The role of cytocin imbalance in the development of man infertility. ***Wiad Lek*** 2020; 1;73(3):525-8.
[10] Loveland KL, Klein B, Pueschl D, Indumathy S, Bergmann M, Loveland BE, et al. Cytokines in male fertility and reproductive pathologies: immunoregulation and beyond. ***Front Endocrinol*** 2017; 8: 307.
[11] Syriou V, Papanikolaou D, Kozyraki A, Goulis DG. Cytokines and male infertility. ***Eur Cytokine Netw*** 2018; 29(3): 73-82.
[12] Chyra-Jach D, Kaletka Z, Dobrakowski M, Machoń-Grecka A, Kasperczyk S, Birkner E, Kasperczyk A. The associations between infertility and antioxidants, proinflammatory cytokines, and chemokines. ***Oxid Med Cell Longev*** 2018; 16;2018.
[13] Zamani-Badi T, Karimian M, Tameh AA, Nikzad H. IL-1α C376A transversion variant and risk of idiopathic male infertility in iranian men: a genetic association study. ***Int J Fertil Steril*** 2018; 12(3): 229-34.
[14] Zamani-Badi T, Nikzad H, Karimian M. IL-1RA VNTR and IL-1α 4845G> T polymorphisms and risk of idiopathic male infertility in Iranian men: A case–control study and an in silico analysis. ***Andrologia*** 2018; 50(9): e13081.
[15] Zamani-Badi T, Karimian M, Azami-Tameh A, Nikzad H. Association of C3953T transition in interleukin 1β gene with idiopathic male infertility in an Iranian population. ***Hum Fertil*** 2019; 22(2): 111-7.
[16] Ashrafzadeh HR, Nazari T, Tezerjani MD, Bami MK, Ghasemi-Esmailabad S, Ghasemi N. Frequency of TNFR1 36 A/G gene polymorphism in azoospermic infertile men: A case-control study. ***Int J Reprod Biomed*** 2017; 15(8): 521-6.
[17] Eggert-Kruse W, Kiefer I, Beck C, Demirakca T, Strowitzki T. Role for tumor necrosis factor alpha (TNF-α) and interleukin 1-beta (IL-1β) determination in seminal plasma during infertility investigation. ***Fertil Steril*** 2007; 87(4): 810-23.
[18] Kurz C, Bentz E-K, Denschlag D, Berner I, Keck C, Tempfer CB, et al. TNFα–308 C→ T and–863 C→ A Polymorphisms and Spermiogram Characteristics. ***Gynecol Obstet Invest*** 2008; 66(1): 63-7.
[19] Bami MK, Tezerjani MD, Montazeri F, Mehrjardi HRA, Ghasemi-Esmailabad S, Sheikhha MH, et al. Tumor necrosis factor alpha-308 G/A single nucleotide polymorphism and risk of sperm abnormalities in Iranian males. ***Int J Fertil Steril*** 2017; 11(2): 112-6.
[20] Zalata A, Atwa A, Badawy AE-N, Aziz A, El-Baz R, Elhanbly S, et al. Tumor necrosis factor-α gene polymorphism relationship to seminal variables in infertile men. ***Urology*** 2013; 81(5): 962-6.
[21] Shukla KK, Agnihotri S, Gupta A, Mahdi AA, Mohamed EA, Sankhwar SN, et al. Significant association of TNFα and IL-6 gene with male infertility—An explorative study in Indian populations of Uttar Pradesh. ***Immunol Lett*** 2013; 156(1-2): 30-7.
[22] Said AMA. The Association Study between Tumor Necrosis Factor-Receptor 1 36 A/G (TNFR1 36 A/G) Gene Polymorphism and Azoospermic Infertile Men in Erbil City. ***Zanco J Pure Appl Sci*** 2021: 33(1): 27-34.
[23] Karimian M, Nikzad H, Azami-Tameh A, Taherian A, Darvishi FZ, Haghighatnia MJ. SPO11-C631T gene polymorphism: association with male infertility and an in silico-analysis. ***J Family Reprod Health*** 2015; 9(4): 155-63.
[24] Mojarrad M, Saburi E, Golshan A, Moghbeli M. Genetics and molecular biology of male infertility among Iranian population: an update. ***Am J Transl Res*** 2021; 13(6): 5767-85.
[25] Tüttelmann F, Ruckert C, Röpke A. Disorders of spermatogenesis: Perspectives for novel genetic diagnostics after 20 years of unchanged routine. ***Med Genet*** 2018; 30(1): 12-20.
[26] Attia H, Finocchi F, Orciani M, Mehdi M, Jrah IZ, Lazzarini R, et al. Pro-Inflammatory Cytokines and MicroRNAs in Male Infertility. ***Mol Biol Rep*** 2021; 48(8): 5935-42.
[27] Aitken R. Oxidative stress and the etiology of male infertility. ***J Assist Reprod Genet*** 2016; 33(12): 1691-2.
[28] Solomon R, AbuMadighem A, Kapelushnik J, Amano B-C, Lunenfeld E, Huleihel M. Involvement of Cytokines and Hormones in the Development of Spermatogenesis In Vitro from Spermatogonial Cells of Cyclophosphamide-Treated Immature Mice. ***Int J Mol Sci*** 2021; 22(4): 1672.
[29] Havrylyuk A, Chopyak V, Boyko Y, Kril I, Kurpisz M. Cytokines in the blood and semen of infertile patients. ***Cent Eur J Immunol*** 2015; 40(3): 337-44.
[30] Park YJ, Pang MG. Mitochondrial functionality in male fertility: From spermatogenesis to fertilization. ***Antioxidants*** 2021; 10(1): 98.
[31] Daneshmandpour Y, Bahmanpour Z, Hamzeiy H, Moghaddam MM, Moghaddam MM, Khademi B, et al. MicroRNAs association with azoospermia, oligospermia, asthenozoospermia, and teratozoospermia: a systematic review. ***J Assist Reprod Genet*** 2020; 37(4): 763-75.