ORIGINAL ARTICLE

Analysis of Androgen Receptor Gene Mutations in Men with Idiopathic Infertility

Mahdieh Faraji[1],
Zivar Salehi[1],
Ali Hamidi Madani[2]

[1] Department of Biology, University of Guilan, Rasht, Iran
[2] Faculty of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

(Received September 2, 2012 ; Accepted February 5, 2013)

Abstract

Background and purpose: Development of the male phenotype and the initiation of spermatogenesis are intricately dependent on the cellular events that respond to androgens. The actions of androgens are mediated by the androgen receptor (AR). The aim of this study was to investigate the association of AR 5'UTR and codon 211 genetic variation with the risk of idiopathic male infertility.

Materials and methods: Genomic DNA was extracted from 60 men with idiopathic infertility and 70 healthy men. The genetic variation of 5'UTR and codon 211 was determined by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)- and PCR-single strand conformation polymorphism (SSCP), respectively.

Results: No mobility shift was seen in the PCR products of 5'UTR in patient and control groups. We did not identify a single mutation at 5'UTR of AR gene in patients and controls. Genotype frequencies of codon 211 in patient group were GG (67%), GA (23%), AA (10%) and in control group there were GG (77%), GA (21%) and AA (1%). No significant differences were found between the two groups in allelic frequencies (χ^2=2.40; P=0.3).

Conclusion: Our findings suggest no correlation between these polymorphisms and male infertility in the studied patients. However, further studies of AR polymorphisms with their biological functions are needed to understand the role of these polymorphisms in the development of male infertility.

Keywords: Androgen receptor gene, Stul polymorphism, idiopathic male infertility

J Mazand Univ Med Sci 2013; 23(98): 2-9 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و دوم شماره ۹۸ اسفند سال ۱۳۹۱ (۹-۲)

بررسی جهش های ژن گیرنده آندروژن در مردان مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک

مهدیه فرجی[۱]
زیور صالحی[۱]
علی حمیدی مدنی[۲]

چکیده

سابقه و هدف: تکوین فنوتیپ مردانه و اسپرماتوژنز، وابسته به وقایع سلولی پاسخ دهنده به آندروژن ها است. اعمال آندروژن‌ها توسط گیرنده آندروژن (Androgen receptor =AR) میانجی می گردد. هدف از این تحقیق، بررسی جهش ناحیه 5'UTR (۲۳- تا۲۱۴+) و کدون ۲۱۱ واقع در اگزون ۱ (G1733A) ژن AR درمردان مبتلا به ناباروری با دلایل ناشناخته (ایدیوپاتیک) می‌باشد.

مواد و روش‌ها: استخراج DNA ژنومی از خون ۶۰ مرد نابارور و ۷۰ فرد سالم به عنوان کنترل صورت گرفت. جهت شناسایی جهش موجود در ناحیه 5'UTR ژن AR، تکنیک polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP) و به منظور بررسی کدون ۲۱، از تکنیک polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)، استفاده گردید.

یافته‌ها: هیچ‌گونه تغییر در مهاجرت محصول PCR مربوط به ناحیه 5'UTR، در دو گروه بیمار و کنترل مشاهده نشد. به عبارت دیگر، هیچ جهشی در ناحیه 5'UTR ژن AR در دو گروه بیمار و کنترل وجود نداشت. فراوانی ژنوتیپ‌های GG، GA و AA مربوط به کدون ۲۱۱ در گروه بیماران به ترتیب برابر با ۶۷ درصد، ۲۳ درصد و ۱۰ درصد و در افراد کنترل برابر ۷۷ درصد، ۲۱ درصد و ۱ درصد بود. تفاوت معنی‌داری در فراوانی آللی بین نمونه‌های مورد مطالعه، مشاهده نشد (p =۰/۳ ، x2 =۲/۴۰).

استنتاج: یافته‌های ما عدم ارتباط جهش ناحیه 5'UTR (۲۳- تا۲۱۴+) و کدون ۲۱۱ ژن AR را با ناباروری ایدیوپاتیک مردان در جمعیت مورد مطالعه نشان داد. لذا بررسی‌های بیش تر در زمینه جهش‌ها و تنوعات ژن AR و اعمال بیولوژیکی آن‌ها، جهت درک نقش این پلی‌مورفیسم‌ها در ناباروری مردان پیشنهاد می گردد.

واژه های کلیدی: ژن گیرنده آندروژن، پلی مورفیسم StuI، ناباروری ایدیوپاتیک مردان

مقدمه

ناباروری به حالتی اطلاق می‌شود که زوجین پس از یک سال مقاربت‌های متوالی، منظم و بدون استفاده از روش‌های پیشگیری، با عدم موفقیت مواجه می‌شوند(۱). بیش از ۱۵ درصد زوج‌ها در جهان نابارور هستند. با توجه به رشد و توسعه جوامع بشری و استفاده روز افزون از مواد شیمیایی مضر و همچنین با در نظر گرفتن تغییر

مؤلف مسئول: زیور صالحی- رشت: خیابان نامجو، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی E-mail: geneticzs@yahoo.co.uk
۱. گروه زیست شناسی، دانشگاه گیلان
۲. دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان
تاریخ دریافت : ۹۱/۶/۱۲ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۹۱/۷/۲۲ تاریخ تصویب :۹۱/۱۱/۱۷

الگوی زندگی و عادات فردی، این احتمال وجود دارد که در سال‌های آینده میزان ناباروری رو به افزایش رود. به طور کلی، ناباروری می‌تواند ناشی از فاکتورهای مردانه، زنانه، فاکتورهای مرکب از هر دو و یا دلایل ناشناخته باشد(۲). علی‌رغم دانش روز افزون محققین در خصوص فیزیولوژی دستگاه تولید مثل مردان و دسترسی به ابزارهای تشخیصی جدید، اتیولوژی ناباروری مردان در بیش از ۳۰ درصد مردان نابارور ناشناخته باقی مانده است(۳). مواردی از ناباروری مردان که علت قابل شرح یا اثباتی برای آن ها وجود ندارد، تحت عنوان ناباروری ایدیوپاتیک (idiopathic infertility) تعریف می‌گردد. امروزه نقش مؤثر فاکتورهای محیطی و ژنتیکی در ناباروری ایدیوپاتیک مردان تا حدودی شناخته شده‌اند(۴). تاکنون نقش جهش در ژن‌هایی از قبیل گیرنده استروژن آلفا و بتا، گیرنده LH و گیرنده آندروژن در ناباروری ایدیوپاتیک مردان صورت گرفته است(۷-۵). آندروژن ها هورمون های استروئیدی هستند که در تکوین فنوتیپ خاص مردانه در طی دوره جنینی، تثبیت رشد جنسی در بلوغ، حفظ عملکرد تولید مثلی مردانه، اسپرماتوژنز و رفتار جنسی در طی دوران بعد از بلوغ دخالت دارند. این هورمون‌ها همچنین اعمال مختلفی را در بافت‌های غیر تولید مثلی مانند استخوان و عضله اسکلتی در مردان و زنان تحت تأثیر قرار می‌دهند. گیرنده آندروژن یک فاکتور رونویسی کلیدی میانجی کننده پیام القاء شده توسط آندروژن ها می‌باشد(۸). ژن AR انسانی بر روی کروموزوم X و در موقعیت q11-12 قرار گرفته است(۹). این ژن، ۸ اگزون، ۷ اینترون و 5'UTR نسبتا طویل دارد. تمایز نهایی اسپرماتیدها و جدا شدن آن‌ها از اپی تلیوم لوله‌های اسپرم ساز، وابسته به گیرنده آندروژن است. در ضمن پیشرفت اسپرماتیدهای کروی به مرحله طویل شدن، به کاهش عملکرد AR سلول‌های سرتولی حساس می باشد(۱۰). به نظر می‌رسد که AR در مراحل نهایی تمایز اسپرم و تبدیل آن به فرم طویل، نقش داشته باشد. از این رو جهش‌هایی که در ژن AR رخ می دهند، احتمالاً منجر به ایجاد اسپرم‌هایی با اشکال غیر طبیعی می‌شوند. تا کنون بیش از ۵۰۰ جهش در ژن AR در افراد مبتلا به سندروم عدم حساسیت به آندروژن شناسایی شده است، گرچه تعداد اندکی از این موتاسیون‌ها در ارتباط با ناباروری مردان بوده اند(۱۱) پلی‌مورفیسم شایع در ژن AR، تکرار CAG در اگزون شماره ۱ است که یک رشته پلی گلوتامین را در دمین انتهای آمینی کد می‌کند(۱۲). گسترش رشته CAG در AR، با ناهنجاری‌های اندوکرینی مثل الیگواسپرمی یا آزواسپرمی همراه می‌باشد. جهش‌های نقطه‌ای متفاوتی در ناحیه پروموتوری ژن AR در بررسی بیماری‌های مختلف نیز شناسایی شده است. یک پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی(single nucleotide polymorphism = SNP) در کدون ۲۱۱ (تبدیل G به A در نوکلئوتید ۱۷۳۳) نیز در این ژن گزارش شده است. این جایگاه توسط StuI قابل شناسایی است(۱۳). اطلاعات کمی در خصوص نقش پلی مورفیسم StuI در ژن AR وجود دارد. ناحیه 5'UTR ژن AR نیز دارای نواحی پلی مورفیک است. با در نظر گرفتن نقش 5'UTR در کنترل ترجمه، بیان پروتئین AR ممکن است تحت تأثیر SNP موجود در 5'UTR قرار گیرد. بنابراین با توجه به نقش گیرنده آندروژن در اسپرماتوژنز و باروری مردان، ممکن است جهش و تنوعات ژنتیکی ژن گیرنده آندروژن در ناباروری مردان مؤثر باشد. لذا جهت بررسی این پیش فرض،توزیع ژنوتیپی و آللی جهش‌های ناحیه 5'UTR (۲۳- تا ۲۱۴+) و پلی مورفیسم StuI ژن AR در مردان نابارور و سالم صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه گیری

در این تحقیق ۶۰ مرد مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک و ۷۰ مرد سالم (به عنوان کنترل) مراجعه کننده به بخش ناباروری بیمارستان الزهرا، رشت، از تیر ماه ۱۳۸۹ لغایت خرداد ۱۳۹۰ مورد بررسی قرار گرفتند. سابقه ناباروری

در بیماران حداقل دو سال بود. معیار خروج نمونه‌ها عبارت بودند از: آزواسپرمی، مصرف دارو، سابقه تب در شش ماه گذشته، عفونت مایع منی، واریکوسل، بیماری‌های سیستمیک، سابقه التهاب بیضه، حضور آنتی‌بادی‌های ضد اسپرم، هیپوگنادیسم هیپوتروفیک، مصرف استروئیدهای آنابولیک، سابقه شیمی درمانی یا رادیوتراپی، تومور بیضه و کاریوتیپ غیرطبیعی مشکل ناباروری در همسران افراد کنترل توسط متخصص زنان رد شده بود. در هر بیمار حداقل سه بار بررسی مایع منی صورت گرفت. اسپرموگرام بر اساس دستورالعمل سازمان جهانی بهداشت انجام گردید(۱۴). در تمامی بیماران تعیین سطح سرمی هورمون‌هایی مانند تستوسترون و پرولاکتین انجام گردید. گروه کنترل شامل مردان سالم با اسپرموگرام طبیعی بود که دارای دو فرزند بودند. محدوده سنی بیماران و افراد کنترل ۴۲-۲۸ سال بود. پس از انتخاب بیماران و افراد سالم، ۲۰۰ میکرولیتر خون در لوله های حاوی هپارین دریافت و جهت استخراج DNA مورد استفاده قرار گرفت.

استخراج DNA ژنومی

DNA ژنومی توسط کیت DNG (شرکت سیناژن، ایران) استخراج گردید. پس از ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده توسط اسپکتروفتومتری، DNA تا قبل از بررسی‌های مولکولی در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR)

تکثیر ناحیه ۲۳- تا ۲۱۴+ و کدون ۲۱۱ (G1733A) در ژن AR با استفاده از جفت پرایمرهای اختصاصی صورت گرفت (جدول شماره ۱). شرایط PCR جهت تکثیر ناحیه پروموتری شامل: ۶ دقیقه در ۹۴ درجه، ۹۰ ثانیه در ۶۰ درجه، ۹۰ ثانیه در ۷۲ درجه و ۹۰ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به منظور گسترش نهایی رشته بود. تکثیر ناحیه اگزون شماره ۱ (کدون ۲۱۱) در شرایط : ۱۱ دقیقه در ۹۵ درجه، ۶۰ ثانیه در دمای ۶۱ درجه، ۱ دقیقه در دمای ۷۲ درجه و در نهایت ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. به منظور اطمینان از صحت واکنش PCR، محصولات با ژل آگارز الکتروفورز گردیدند. در صورت استفاده از جفت آغازگرهای ۳S و ۴AS (ناحیه 5'UTR) قطعه ای به طول ۲۱۶ bp و در صورت استفاده از آغازگرهای F و R، قطعه ای به طول ۴۱۶ bp تکثیر می یافت.

روش SSCP

به منظور غربالگری جهش‌های موجود در ناحیه 5'UTR، تکنیک SSCP استفاده گردید. جهت تهیه ژل پلی آکریل آمید ۱۲ درصد محتوی PEG (۵ گرم در لیتر)، ۵۰۰ میکرولیتر TBE-10X، ۷۴۵۰ میکرولیتر آب مقطر استریل حاوی ۰/۰۵ گرم پلی اتیلن گلیکول و ۰/۰۰۱ گرم سدیم آزید، ۲۰۰۰ میکرولیتر آکریل آمید ۳۰ درصد و ۴۰ میکرولیتر از محلول آمونیوم پر سولفات ۱۰ درصد مخلوط شدند. سپس ۱۰ میکرولیتر TEMED به مخلوط فوق اضافه شد. جهت انجام الکتروفورز ولتاژ ۸۰، زمان ۱۸۰ دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شد. پس از انجام الکتروفورز و رنگ‌آمیزی ژل با نیترات نقره، عکسبرداری توسط Gel Doc انجام گردید. در صورت وجود جهش در ناحیه ۲۳- تا ۲۱۴+

جدول شماره ۱: خصوصیات پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه

جایگاه	توالی پرایمر	اندازه ی قطعه تکثیر شده (جفت باز)	دمای اتصال (°C)
۲۳- تا۲۱۴+	3S: 5□-GTTGCATTTGCTCTCCACCTCCC-3□ 4AS: 5□-TCACCGAAGAGGAAAGGGCAGCTC-3□	۲۶۱	۶۰
کدون ۲۱۱ (G1733A)	F: 5□-CACAGGCTACCTGGTCCTGG-3□ R: 5□-CTGCCTTACACAACTCCTTGGC-3□	۴۱۶	۶۱

ژن AR ، تفاوت در حرکت تک رشته ها قابل مشاهده خواهد بود.

روش RFLP

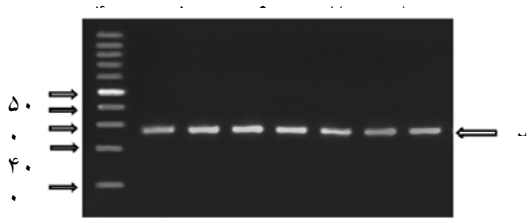
شناسایی پلی‌مورفسیم کدون ۲۱۱ توسط تکنیک RFLP با آنزیم StuI صورت گرفت. بدین منظور ۸ میکرولیتر محصول PCR با ۱ واحد آنزیم و بافر مربوطه مخلوط و توسط آب مقطر به حجم ۳۲ میکرولیتر رسانیده شد. سپس انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت صورت گرفت. به منظور بررسی نحوه عمل آنزیم، از الکتروفورز ژل آگارز ۲ درصد استفاده گردید.

آنالیز آماری

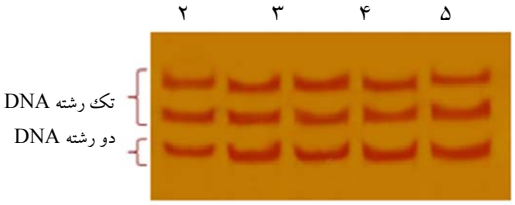
آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار MedCalc version صورت گرفت. جهت بررسی معنی‌دار بودن تفاوت بین ژنوتیپ‌ها در دو گروه بیمار و کنترل از آزمون Chi- Square استفاده گردید p =۰/۰۵ نشان دهنده عدم معنی‌دار بودن اختلاف نتایج بین دو گروه می‌باشد.

یافته‌ها

در این تحقیق در مجموع ۱۳۰ نفر شامل ۶۰ مرد مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک و ۷۰ مرد سالم به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند. در تمام بیماران میزان پرولاکتین و تستوسترون سرم در حد طبیعی بود. میانگین سنی در مردان نابارور ۲/۱ ± ۳۲/۲۳ سال و در گروه کنترل ۳/۸ ± ۳۴/۶۷ سال بود. اختلاف معنی‌داری در خصوص سن در دو گروه بیمار و کنترل وجود نداشت (p >۰/۰۵). به منظور بررسی وجود جهش در ناحیه ۲۳- تا ۲۱۴+ از ژن AR، پس از PCR، تکنیک SSCP انجام گردید. در تصاویر شماره ۱ و ۲ تصویر ژل حاصل از PCR و SSCP آورده شده است. نتایج حاصله نشان داد که از ۱۳۰ نمونه مورد بررسی، در هیچ نمونه تغییری در مهاجرت باندهای DNA وجود نداشت، لذا می‌توان نتیجه‌گیری کرد که با استفاده از SSCP، جهشی در ناحیه ۲۳- تا ۲۱۴+ در نمونه های مورد بررسی وجود نداشت.



تصویر شماره ۱: محصولات PCR مربوط به ناحیه ۲۳- تا۲۱۴+ ژن AR در ژل آگارز ۲٪. ردیف های ۸-۲ مربوط به ناحیه ی 5'UTR تکثیر شده در افراد بیمار و سالم می باشد. ردیف ۱ نشان دهنده مارکر وزن مولکولی با اندازه ی bp ۱۰۰ می باشد که ۲ میکرولیتر در چاهک تزریق شد. طول قطعه تکثیر شده bp ۲۶۱ است.

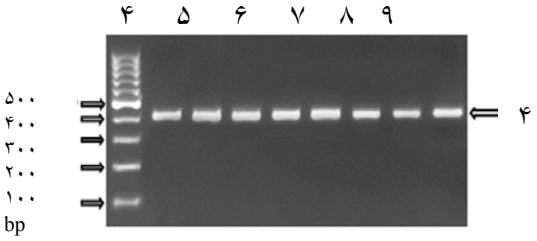


تصویر شماره ۲: تصویر ژل حاصل از SSCP. در نمونه های ۵-۱تغییری در نحوه مهاجرت رشته های DNA مشاهده نگردید.

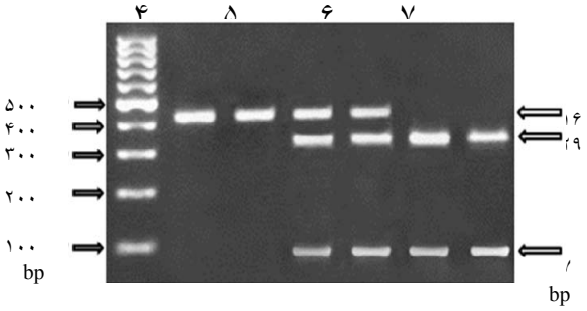
به منظور بررسی پلی مورفیسم کدون ۲۱۱ ژن AR، نمونه‌های DNA –ی افراد بیمار وگروه کنترل تحت تیمار آنزیم StuI قرار گرفتند. تصاویر مربوط به PCR-RLFP در تصاویر شماره ۳ و ۴ آورده شده است. بررسی نتایج نشان داد که از ۶۰ بیمار، ۶ نفر (۱۰ درصد) دارای ژنوتیپ A/A، ۱۴ نفر (۲۳ درصد) ژنوتیپ G/A و ۴۰ نفر (۶۷ درصد) ژنوتیپ G/G بودند. در گروه کنترل، ژنوتیپ A\A در۱ فرد (۱ درصد)، ژنوتیپ G/A در ۱۵ نفر (۲۱ درصد) و ژنوتیپ G/G در ۵۴ نفر (۷۷ درصد) مشاهده گردید.

جهت بررسی معنی‌دار بودن تفاوت بین ژنوتیپ ها در دو گروه فوق از آزمون Chi-Squqre استفاده

گردید. مقدار χ^2 محاسبه شده برای تفاوت فراوانی ژنوتیپی در دو گروه بیمار و کنترل برابر ۲/۴۰ و مقدار P معادل ۰/۳ است. با توجه به مقدار P می‌توان نتیجه‌گیری نمود که ارتباطی بین پلی مورفیسم کدون ۲۱۱ ژن AR با ناباروری ایدیوپاتیک مردان در جعیت مورد مطالعه وجود نداشت.



تصویر شماره ۳: تکثیر اگزون ۱ توسط PCR. قطعه ای به طول ۴۱۶ جفت باز در نمونه های ۹-۲ با کمک جفت پرایمرهای اختصاصی توسط PCR تکثیر گردید. ۱= مارکر



تصویر شماره ۴: محصولات حاصل از RFLP. نمونه های ۲و۳ هموزیگوت AA، ۴و۵ هتروزیگوت GA، نمونه های ۶و ۷ هموزیگوت GG.۱= مارکر

بحث

تغییرات در ژن AR به دو دلیل مورد توجه می‌باشند: اول این‌که ژن AR بر روی کروموزوم X قرار دارد. لذا به صورت همی زیگوت توسط مردان حمل شده و از زنان ناقل سالم به ارث می‌رسد، دلیل دوم آن که آندروژن‌ها اثر مستقیمی بر روی سلول‌های سرتولی و رشد و نمو اسپرم دارند. AR جهش یافته و یا ناقص از لحاظ عملکرد، با بیماری‌هایی نظیر سرطان پروستات(۱۵)، سرطان بیضه(۱۶) و سندروم تخمدان پلی کیستیسک(۱۷)، مرتبط می باشد. گرچه صدها موتاسیون در ژن AR و در بیماری‌های مختلف گزارش شده‌اند، تعداد اندکی از این موتاسیون ها با ناباروری مردان مرتبط بوده اند(۱۱،۱۸).

جهش در نواحی تنظیمی یا پروموتر ژن به طور مشخص با تغییرات کمی در فعالیت رونویسی و ترجمه در ارتباط می‌باشد. آغاز رونویسی در دو ناحیه از ژن AR صورت می‌گیرد، AR-TIS I (آغاز رونویسی از نوکلئوتیدهای ۱+، ۲+ یا ۳+) و AR-TIS II (آغاز رونویسی از نوکلئوتیدهای ۱۲+ یا ۱۳+) (۱۹). Mizokami و Chang در سال ۱۹۹۵ یک ناحیه ۱۸۱ جفت بازی در ناحیه 5'UTR ژن *AR* (از نوکلئوتید ۲۱+ تا ۲۰۲+) را مشخص نمودند. نتایج آن‌ها نشان داد که این ناحیه نقش اساسی در القای ترجمه ژن AR دارد(۲۰، ۲۱). لذا با توجه به نقش 5'UTR، جهش این ناحیه ممکن است به عنوان فاکتور ژنتیکی دخیل در ناباروری مردان مطرح گردد. در تحقیق حاضر، 5'UTR ژن AR (از نوکلئوتید ۲۳- تا ۲۴۰+) ۶۰ مرد مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک و ۷۰ فرد سالم با استفاده از PCR-SSCP مورد غربالگری قرار گرفت. در هیچ یک از نمونه‌ها جهشی در ناحیه مذکور مشاهده نگردید. مطالعه‌ای توسط Ghaddessy و همکاران در سال ۱۹۹۹ بر روی ۲۴۰ مرد مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک در مالزی انجام گردید. بررسی آن‌ها نشان داد که جهش‌های موجود در ناحیه پروموتری، در مردان نابارور، نادر است زیرا در هیچ‌کدام از این افراد تحت بررسی، جهش ژن AR در ناحیه مورد بررسی مشاهده نگردید(۲۲). در حالی‌که Crocitto و همکاران در سال ۱۹۹۷ موفق به شناسایی دو جهش نقطه‌ای در موقعیت های ۲+ و ۲۱۴+ ژن AR در دو مرد مبتلا به سرطان پروستات شدند(۲۳). در سال ۲۰۰۴، Cabral و همکاران، ۱۹۲ فرد مبتلا به سرطان پروستات را از نظر جهش های ناحیه پروموتر و 5'UTR ژن AR مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها موفق به شناسایی

تنها یک مورد حذف نوکلئوتید T در موقعیت ۳۶+ ژن مذکور شدند. این یافته‌ها حاکی از آن است که احتمالاً جهش های پروموتر و5'UTR ژن AR، نادر و کمیاب بوده و از لحاظ تکاملی این نواحی از ژن مذکورحفاظت شده می باشد(۲۴).

ژن AR، دارای دو تکرار پلی مورفیک در اگزون ۱ می‌باشد که با تکرارهای متفاوت CAG و GGN مشخص می‌شود. این تکرارهای متفاوت، منجر به توالی متنوعی از نواحی پلی گلوتامین و پلی گلیسین می‌شوند(۱۲،۲۵). یک پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی در کدون ۲۱۱ (G1733A) در بین تکرارهای CAG و GGN در اگزون ۱ گزارش شده است که توسط آنزیم محدود کننده StuI قابل شناسایی است(۱۳). در تحقیق حاضر، پلی مورفیسم StuI از طریق PCR-RFLP در افراد بیمار و کنترل مورد بررسی قرار گرفت. تفاوت معنی‌داری در توزیع اللی و ژنوتیپی پلی مورفیسم StuI در مردان مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک و گروه کنترل مشاهده نگردید (p =۰/۳). بنابراین احتمالاً پلی‌مورفیسم StuI در ناباروری ایدیوپاتیک مردان در جمعیت مورد مطالعه نقشی ندارد.

Sasaki و همکارانش در سال ۲۰۰۵ با مطالعه‌ای که بر روی ۱۱۳ فرد مبتلا به سرطان آندومتر در جمعیت ژاپن به عمل آوردند، ارتباط معنی‌داری را بین پلی‌مورفیسم StuI و سرطان اندومتر پیدا نکردند(۲۶). اگر چه در یک بررسی در سال ۲۰۰۳، ارتباط مشهودی بین پلی مورفیسم StuI و سرطان پروستات به دست آمده است(۲۷). در یک مطالعه بزرگ، Zhuo و همکاران در سال ۲۰۱۲ پیشنهاد کردند که آلل G در پلی‌مورفیسم StuI ژن گیرنده آندروژن می‌تواند به عنوان یک فاکتور خطر، در سفیدپوستان مطرح گردد(۲۸). علت تفاوت در نتایج مطالعات پلی‌مورفیسم ژنی اختلافات نژادی، جغرافیایی، ژنتیکی جمعیت های مورد مطالعه می باشد. به طور کلی در تحقیق حاضر، دو ناحیه از ژن AR، ناحیه 5'UTR و کدون ۲۱۱ در ارتباط با مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این مطالعه ارتباط معنی‌داری بین جهش این نواحی و ناباروری ایدیوپاتیک مردان در جمعیت مورد مطالعه نشان نداد. مطالعاتی که تا به امروز در خصوص ناباروری مردان با تنوعات ژن AR صورت گرفته‌اند، نتوانسته اند نقش دقیق این جهش‌ها را در ناباروری مردان شرح دهند. نکته مهم این است که تمامی جهش‌هایی که منجر به کاهش فعالیت ژن AR می‌شوند در تحقیق حاضر مورد بررسی قرار نگرفته است و لذا بررسی گسترده‌تری بر روی ژن AR باید انجام شود. در ضمن، با توجه به چند عاملی بودن ناباروری مردان و نقش مؤثر عوامل ژنتیکی و محیطی مختلف در ایجاد آن، لازم است در مطالعات مربوط به این بیماری، سایر ژن ها و تأثیر متقابل آن ها بر یکدیگر نیز مورد بررسی قرار گیرند.

سپاسگزاری

از دانشگاه گیلان به جهت تأمین منابع مالی این تحقیق سپاسگزاری می‌شود.

References

1. World Health Organization. Report of the Meeting on the Prevention of Infertility at the Primary Health Care Level. WHO, Geneva; 1983. WHO/MCH/1984.4.
2. Jaffe SB, Jewelewicz R. The basic infertility investigation. Fertil Steril 1991; 56(4): 599-613.
3. Pasqualotto FF, Pasqualotto EB, Sobreiro BP, Hallak J, Medeiros F, Lucon AM. Clinical diagnosis in men undergoing infertility investigation in a university hospital. Urol Int 2006; 76(2): 122-5.
4. Dohle GR, Colpi GM, Hargreave TB, Papp GK, Jungwirth A, Weidner W; EAU

Working Group on Male Infertility .EAU guidelines on male infertility. Eur Urol 2005; 48(5): 703-11.

5. Su MT, Chen CH, Kuo PH, Hsu CC, Lee IW, Pan HA, et al. Polymorphisms of estrogen-related genes jointly confer susceptibility to human spermatogenic defect. Fertil Steril 2010; 93(1): 141-9.
6. Shahid M, Dhillon VS, Khalil HS, Sexana A, Husain SA. Associations of Y-chromosome subdeletion gr/gr with the prevalence of Y-chromosome haplogroups in infertile patients. Eur J Hum Genet 2011; 19(1): 23-9.
7. Bruysters M, Christin-Maitre S, Verhoef-Post M, Sultan C, Auger J, Faugeron I, et al. A new LH receptor splice mutation responsible for male hypogonadism with subnormal sperm production in the propositus, and infertility with regular cycles in an affected sister. Hum Reprod 2008; 23(8): 1917-1923.
8. Matsumoto T, Shiina H, Kawano H, Sato T, Kato S. Androgen receptor functions in male and female physiology. J Steroid Biochem Mol Biol 2008; 109(3-5): 236-241.
9. Lubahn D, Joseph D, Sullivan P, Willard H, French F, Wilson E. Cloning of human androgen receptor complementary DNA and localization to the X chromosome. Science 1988; 240(4850): 327-330.
10. Holdcraft RW, Braun RE. Androgen receptor function is required in Sertoli cells for the terminal differentiation of haploid spermatids. Development 2004; 131(2): 459-67.
11. Gottlieb B, Beitel LK, Nadarajah A, Paliouras M, Trifiro M. The androgen receptor gene mutations database: 2012 update. Hum Mutat 2012; 33(5): 887-894.
12. Kuiper GG, Faber PW, van Rooij HC, van der Korput JA, Ris-Stalpers C, Klaassen P, et al. Structural organization of the human androgen receptor gene. J Mol Endocrinol 1989; 2(3): R1-4.
13. Lu J, Danielsen M. A Stu I polymorphism in the human androgen receptor gene (AR). Clin Genet 1996; 49(6): 323-4.
14. World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 1999.
15. Hardy DO, Scher HI, Bogenreider T, Sabbatini P, Zhang ZF, Nanus DM, et al. Androgen receptor CAG repeat lengths in prostate cancer: correlation with age of onset. J Clin Endocrinol Metab 1996; 81(12): 4400-4405.
16. Västermark Å, Giwercman YL, Hagströmer O, De-Meyts ER, Eberhard J, Ståhl O, et al. Polymorphic variation in the androgen receptor gene: association with risk of testicular germ cell cancer and metastatic disease. Eur J Cancer 2011; 47(3):413-9.
17. Lin LH, Baracat MC, Maciel GA, Soares JM Jr, Baracat EC. Androgen receptor gene polymorphism and polycystic ovary syndrome. Int J Gynaecol Obstet 2012; 23. pii: S0020-7292(12)00551-6.
18. Mosaad YM, Shahin D, Elkholy AA, Mosbah A, Badawy W. CAG repeat length in androgen receptor gene and male infertility in Egyptian patients. Andrologia 2012; 44(1): 26-33.
19. Jenster G, van der Korput HA, Trapman J, Brinkmann AO. Identification of two transcription activation units in the N-terminal domain of the human androgen receptor. J Biol Chem 1995; 270(13): 7341-6.
20. Chang C, Saltzman A, Yeh S, Young W, Keller E, Lee HJ, et al. Androgen receptor: an overview. Crit Rev Eukaryot Gene Expr 1995; 5(2): 97-125.

21. Mizokami A, Chang C. Induction of translation by the 5'-untranslated region of human androgen receptor mRNA. J Biol Chem 1994; 269(41): 25655-9.
22. Ghadessy FJ, Liow SL, Yong EL. Mutations in the promoter region of the androgen receptor gene are not common in males with idiopathic infertility. Mol Hum Reprod 1999; 5(3): 287-90.
23. Crocitto LE, Henderson BE, Coetzee GA. Identification of two germline point mutations in the 5'UTR of the androgen receptor gene in men with prostate cancer. J Urol 1997; 158(4): 1599-601.
24. Cabral DF, Santos A, Ribeiro ML, Mesquita JC, Carvalho-Salles AB, Hackel C. Rarity of DNA sequence alterations in the promoter region of the human androgen receptor gene. Braz J Med Biol Res 2004; 37(12): 1789-94.
25. Brinkmann AO, Klaasen P, Kuiper GG, van der Korput JA, Bolt J, de Boer W, et al. Structure and function of the androgen receptor. Urol Res 1989; 17(2): 87-93.
26. Sasaki M, Karube A, Karube Y, Watari M, Sakuragi N, Fujimoto S, et al. GGC and StuI polymorphism on the androgen receptor gene in endometrial cancer patients. Biochem Biophys Res Commun 2005; 329(1): 100-4.
27. Medeiros R, Vasconcelos A, Costa S, Pinto D, Morais A, Oliveira J, et al. Steroid hormone genotypes ARStuI and ER325 are linked to the progression of human prostate cancer. Cancer Genet Cytogenet 2003; 141(2): 91-6.
28. Zhuo FL, Xu W, Wang L, Wu Y, Xu ZL, Zhao JY. Androgen receptor gene polymorphisms and risk for androgenetic alopecia: a meta-analysis. Clin Exp Dermatol 2012; 37(2): 104-11.