

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

مهديه 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 آندروژن ها توسط گیرنده آندروژن (Androgen receptor =AR) میانجی می گردد. هدف از این تحقیق، بررسی جهش ناحیه 5'UTR (۲۳- تا ۲۱۴+) و کدون ۲۱۱ واقع در اگزون ۱ (G1733A) ژن AR در مردان مبتلا به ناباروری با دلایل ناشناخته (ایدیوپاتیک) می باشد.

مواد و روش ها: 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 ۲۱۱، از تکنیک polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)، استفاده گردید.

یافته ها: هیچ گونه 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 ژنوتیپ های GA، GG 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 معنی داری در فراوانی آللی بین نمونه های مورد مطالعه، مشاهده نشد ($p = ۰/۳$ ، $x^2 = ۲/۴۰$).

استنتاج: یافته های ما عدم ارتباط جهش ناحیه 5'UTR (۲۳- تا ۲۱۴+) و کدون ۲۱۱ ژن AR را با ناباروری ایدیوپاتیک مردان در جمعیت مورد مطالعه نشان داد. لذا بررسی های بیش تر در زمینه جهش ها و تنوعات ژن AR و اعمال بیولوژیکی آن ها، جهت درک نقش این پلی مورفیسم ها در ناباروری مردان پیشنهاد می گردد.

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

مقدمه

ناباروری به حالتی اطلاق می شود که زوجین پس از یک سال مقاربت های متوالی، منظم و بدون استفاده از روش های پیشگیری، با عدم موفقیت مواجه می شوند (۱).
بیش از ۱۵ درصد زوج ها 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

E-mail: genetics@yahoo.co.uk

مؤلف مسئول: زیور صالحی - رشت: خیابان نامجو، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

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

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). پلی مورفیسم شایع در ژن AR، تکرار CAG در آگزون 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 پلی مورفیسم 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 اسپرماتوزن 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 آلی جهش‌های ناحیه 5'UTR (۲۳- تا ۲۱۴+) و پلی مورفیسم StuI ژن AR در مردان نابارور و سالم صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری

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

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 آن‌ها 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 (۵-۷). آندروژن‌ها هورمون‌های استروئیدی هستند که در تکوین فنوتیپ خاص مردانه در طی دوره جنینی، تثبیت رشد جنسی در بلوغ، حفظ عملکرد تولید مثلی مردانه، اسپرماتوزن 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 آندروژن‌ها می‌باشد (۸). ژن AR انسانی بر روی کروموزوم X و در موقعیت q11-12 قرار گرفته است (۹). این ژن، ۱۸ آگزون، ۱۷ اینترون و 5'UTR نسبتاً 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 می‌باشد (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

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 سانتی گراد 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 سانتی گراد 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 جهش های 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 سانتی گراد در نظر گرفته شد. پس از انجام الکتروفورز و رنگ آمیزی ژل با نیترات نقره، عکسبرداری توسط Gel Doc انجام گردید. در صورت وجود جهش در ناحیه ۲۳- تا ۲۱۴+ گردید.

در بیماران حداقل دو سال بود. معیار خروج نمونه ها عبارت بودند از: آزواسپرمی، مصرف دارو، سابقه تب در شش ماه گذشته، عفونت مایع منی، واریکوسل، بیماری های سیستمیک، سابقه التهاب بیضه، حضور آنتی بادی های 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 هورمون هایی 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 ۲۸-۴۲ 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 بررسی های مولکولی در فریزر ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

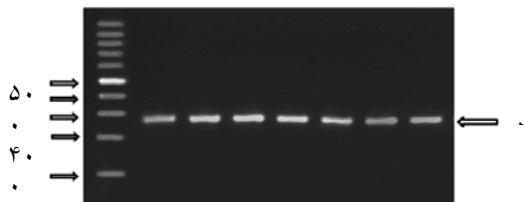
واکنش زنجیره ای پلی مرز (PCR)

تکثیر ناحیه ۲۳- تا ۲۱۴+ و کدون ۲۱۱ (G1733A) در ژن AR با استفاده از جفت پرایمرهای

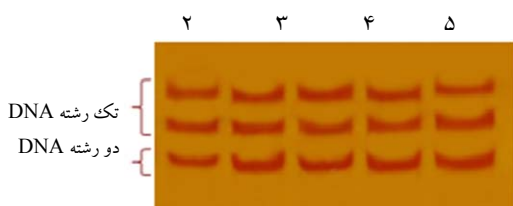
جدول شماره ۱: خصوصیات پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه

جایگاه	توالی پرایمر	اندازه ی قطعه	دمای اتصال
		تکثیر شده (جفت باز)	(°C)
۲۳- تا ۲۱۴+	3S: 5'-GTTGCATTTGCTCTCCACCTCCC-3' 4AS: 5'-TCACCGAAGAGGAAAGGGCAGCTC-3'	۲۶۱	۶۰
کدون ۲۱۱ (G1733A)	F: 5'-CACAGGCTACCTGGTCTGG-3' R: 5'-CTGCCTTACACAACCTCTGGC-3'	۴۱۶	۶۱

در هیچ نمونه تغییری در مهاجرت باندهای DNA وجود نداشت، لذا می توان نتیجه گیری 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- تا ۲۱۴+ 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 ۱۰۰ bp می باشد که ۲ میکرولیتر در چاهک تزریق شد. طول قطعه تکثیر شده ۲۶۱ bp است.



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

به منظور بررسی پلی مورفیسم کدون ۲۱۱ ژن AR، نمونه های DNA سی افراد بیمار و گروه 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 در ۱ فرد (۱ درصد)، ژنوتیپ G/A در ۱۵ نفر (۲۱ درصد) و ژنوتیپ G/G در ۵۴ نفر (۷۷ درصد) مشاهده گردید.

جهت بررسی معنی دار بودن تفاوت بین ژنوتیپ ها در دو گروه فوق از آزمون Chi-Square استفاده

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

روش RFLP

شناسایی پلی مورفیسم 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 سانتی گراد 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 معنی دار بودن تفاوت بین ژنوتیپ ها در دو گروه بیمار و کنترل از آزمون Chi-Square استفاده گردید $p = 0/05$ نشان دهنده عدم معنی دار بودن اختلاف نتایج بین دو گروه می باشد.

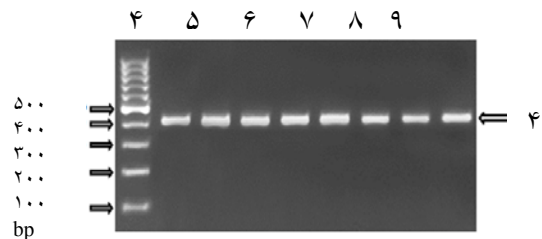
یافته ها

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 $2/1 \pm 32/23$ سال و در گروه کنترل $3/8 \pm 34/67$ سال بود. اختلاف معنی داری در خصوص سن در دو گروه بیمار و کنترل وجود نداشت ($p > 0/05$). 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،

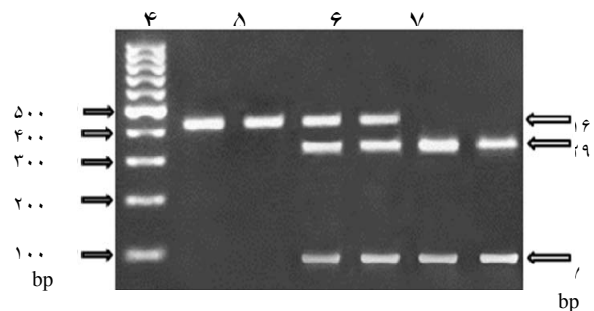
پروستات (۱۵)، سرطان بیضه (۱۶) و سندروم تخمدان پلی کیستیک (۱۷)، مرتبط می باشد. گرچه صدها موتاسیون در ژن AR و در بیماری های مختلف گزارش شده اند، تعداد اندکی از این موتاسیون ها با ناباروری مردان مرتبط بوده اند (۱۱، ۱۸).

جهش در نواحی تنظیمی یا پروموتور ژن به طور مشخص با تغییرات کمی در فعالیت رونویسی و ترجمه در ارتباط می باشد. آغاز رونویسی در دو ناحیه از ژن AR صورت می گیرد، I (AR-TIS) (آغاز رونویسی از نوکلئوتیدهای +۱، +۲ یا +۳) و II (AR-TIS) (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 آن ها 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 نمونه ها جهشی در ناحیه مذکور مشاهده نگردید. مطالعه ای توسط Ghaddesy و همکاران در سال ۱۹۹۹ بر روی ۲۴۰ مرد مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک در مالزی انجام گردید. بررسی آن ها نشان داد که جهش های موجود در ناحیه پروموتری، در مردان نابارور، نادر است زیرا در هیچ کدام از این افراد تحت بررسی، جهش ژن AR در ناحیه مورد بررسی مشاهده نگردید (۲۲). در حالی که Crocitto و همکاران در سال ۱۹۹۷ موفق به شناسایی دو جهش نقطه ای 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 پروموتور و 5'UTR ژن AR مورد بررسی قرار دادند. آن ها موفق به شناسایی

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 می توان نتیجه گیری نمود که ارتباطی بین پلی مورفیسم کدون ۲۱۱ ژن AR با ناباروری ایدیوپاتیک مردان در جمعیت مورد مطالعه وجود نداشت.



تصویر شماره ۳: تکثیر آگرون 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 ۲ و ۳ هموزیگوت AA، ۵ و ۴ هتروزیگوت GA، نمونه های ۶ و ۷ هموزیگوت GG. ۱= مارکر

بحث

تغییرات در ژن AR به دو دلیل مورد توجه می باشند: اول این که ژن AR بر روی کروموزوم X قرار دارد. لذا به صورت همی زیگوت توسط مردان حمل شده و از زنان ناقل سالم به ارث می رسد، دلیل دوم آن که آندروژن ها اثر مستقیمی بر روی سلول های سرتولی و رشد و نمو اسپرم دارند. AR جهش یافته و یا ناقص از لحاظ عملکرد، با بیماری هایی نظیر سرطان

است (۲۷). در یک مطالعه بزرگ، Zhuo و همکاران در سال ۲۰۱۲ پیشنهاد کردند که آلل G در پلی مورفیسم StuI ژن گیرنده آندروژن می تواند به عنوان یک فاکتور خطر، در سفیدپوستان مطرح گردد (۲۸). علت تفاوت در نتایج مطالعات پلی مورفیسم 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 معنی داری 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 گرفته اند، نتوانسته اند نقش دقیق این جهش ها را در ناباروری مردان شرح دهند. نکته مهم این است که تمامی جهش هایی که منجر به کاهش فعالیت ژن AR می شوند در تحقیق حاضر مورد بررسی قرار نگرفته است و لذا بررسی گسترده تری 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 می شود.

تنها یک مورد حذف نوکلئوتید T در موقعیت +۳۶ ژن مذکور شدند. این یافته ها حاکی از آن است که احتمالاً جهش های پروموتور و 5'UTR ژن AR، نادر و کمیاب بوده و از لحاظ تکاملی این نواحی از ژن مذکور حفاظت شده می باشد (۲۴).

ژن AR، دارای دو تکرار پلی مورفیک در اگزون ۱ می باشد که با تکرارهای متفاوت CAG و GGN مشخص می شود. این تکرارهای متفاوت، منجر به توالی متنوعی از نواحی پلی گلوتامین و پلی گلیسین می شوند (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 معنی داری در توزیع اللی و ژنوتیپی پلی مورفیسم StuI در مردان مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک و گروه کنترل مشاهده نگردید ($p=0/3$). بنابراین احتمالاً پلی مورفیسم StuI در ناباروری ایدیوپاتیک مردان در جمعیت مورد مطالعه نقشی ندارد.

Sasaki و همکارانش در سال ۲۰۰۵ با مطالعه ای که بر روی ۱۱۳ فرد مبتلا به سرطان آندومتر در جمعیت ژاپن به عمل آوردند، ارتباط معنی داری را بین پلی مورفیسم StuI و سرطان آندومتر پیدا نکردند (۲۶). اگر چه در یک بررسی در سال ۲۰۰۳، ارتباط مشهودی بین پلی مورفیسم StuI و سرطان پروستات به دست آمده

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.