ژنتیک نوین
دوره یازدهم، شماره ۱، بهار ۱۳۹۵
صفحه ۲۰-۱۳

# عدم ارتباط دو جهش G>C ۳۶۸ و C>T ۳۸۶ ژن *NR5A1* با ناباروری مردان

# Lack of association between two 367 G>C and 386 C>T mutations in NR5A1 gene with male infertility

مستانه تیموری[۳،۱]، سیدغلامعلی جورسرایی[۲]، محمد کریمیان[۳]، اباصلت حسین‌زاده کلاگر*[۳]

۱- دانشجوی کاشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان
۲- دانشیار، مرکز تحقیقات باروری و ناباروری، دانشگاه علوم پزشکی بابل
۳- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشجوی دکتری، استاد، دانشگاه مازندران، بابلسر

**Teimouri M[1,3], Jorsarayi SGA[2], Karimian M[3], Hosseinzadeh Colagar A[3*]**

1. MSc Student, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran
2. Associate Professor, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
3. MSc Student, PhD Student, Professor, University of Mazandaran, Babolsar

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی:ahcolagar@umz.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۴/٤/٦ - تاریخ پذیرش: ۹٤/۱۱/۲۵)

## چکیده

**ژن *NR5A1*، که تنظیم‌کننده رونویسی از ژن‌های درگیر در محور استروئیدوژنیک هیپوتالاموس-هیپوفیز است، عضوی از خانواده رسپتورهای هسته‌ای می‌باشد. برخی از موتاسیون‌های موجود در این ژن از قبیل c.712G>A، c.634G>A، c.571C>T و c.392C>T می‌تواند با اختلالات اسپرم‌زایی ارتباط داشته باشد. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط ترانسورژن ۳٦۸G>C و ترانزیشن ۳۸٦ C>T ژن *NR5A1* با ناباروری در مردان است. در این مطالعه مورد-شاهدی، از ۷۰ مرد نابارور و ۷۵ مرد بارور، به‌عنوان گروه کنترل، نمونه خون تهیه شد. پس از استخراج DNA ژنومی افراد بیمار و کنترل، ژنوتیپ ۳٦۸G>C و ۳۸٦C>T موجود در ژن *NR5A1* با کمک RFLP-PCR تعیین شد. در مورد جابجایی ۳٦۸G>C، آنالیز آماری نشان داد که هیچ یک از ژنوتیپ‌های GC (P=۰/٤۳، ۰/٤٦-٦/۲٦= CI ۹۵٪ و OR= ۱/٦۹) و یا CC (P=۰/٤٦، ۰/۱۳-۸٤/٤۱= CI ۹۵٪ و OR=۳/۳۸) با ناباروری ایدیوپاتیک مردان ارتباط ندارد. آلل C هم فاقد ارتباط با ناباوری (P=۰/۲۰،۰/٦۵-۷/۵۲=CI ۹۵٪ و OR= ۲/۲۱) بود. اما در مورد جایگاه ۳۸٦C>T، فقط یک نمونه در گروه شاهد دارای ژنوتیپ CT بوده و بقیه نمونه-ها ژنوتیپ CC داشتند. بنابراین ژنوتیپ CT فاقد ارتباط با ناباروری مردان (P= ۰/۵۲، ۸/۷۹-۱/۰۱ =۹۵CI٪ و OR= ۰/۳۵) بود. یافته‌های این مطالعه نشان داد جابجایی‌های فوق، نمی‌تواند مارکر مناسبی جهت استعداد ژنتیکی ابتلا به ناباروری ناشناخته باشد و بنابراین نیاز به بررسی رابطه سایر جهش‌های تک نوکلئوتیدی این ژن با ناباروری مردان است.**

**واژه‌های کلیدی**

ژن *NR5A1*
موتاسیون
ناباروری مردان
PCR-RFLP

[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-02 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.1.2.5 ]

## مقدمه

دلایل ناباروری در مردان، اغلب ناشناخته است. ناباروری در مردانی که سابقه خانوادگی ناباروی دارند، عمدتاً به‌علت موتاسیون‌های اتوزوم غالب یا مغلوب می‌باشد (Cantu et al. 1981; Tuerlings et al. 2002; Gianotten et al. 2004). ناهنجاری‌های کروموزومی (مانند سندرم کلاین فلتر) و حذف-های بازوی بلند کروموزوم Y، در ۱۰ درصد مردان نابارور دیده می‌شود (McLachlan et al. 2010). اگرچه مطالعات روی جوندگان نشان می‌دهد که ژن‌های زیادی در ناباروری مردان نقش دارد اما نقش این ژن‌ها به‌خوبی در ناباروری مردان در انسان مشخص نیست. از ژن‌های مهمی که نقش آن‌ها در ناباروری مردان مشخص شد می‌توان به *AURKC* (مرتبط با اختلالات بزرگی سر و ایجاد چند فلاژلا در اسپرم)، SPATA16 (مرتبط با گلوبوزوسپرمیا)، *CATSPER1* (مرتبط با اختلالات مغلوب در ناباروری)، داینئین (مرتبط با اختلالات حرکتی اسپرم)، *MTHFR* (مرتبط با الیگواسپرمیا) و ژن *NR5A1* اشاره کرد (Bashamboo et al. 2010; O'Flynn et al. 2010; Karimian and Colagar, 2014; Nikzad et al. 2015).

ژن *NR5A1*، به‌عنوان یک عضو از خانواده رسپتورهای هسته‌ای، نقش تنظیم کننده رونویسی ژن‌های درگیر در محور استروئیدوژنیک هیپوتالاموس–هیپوفیز را دارد (Morohashi et al. 1992; Luo et al. 1994). این ژن که همچنین تحت عنوان فاکتور استروئیدوژنیک ۱ نیز نام‌گذاری شد دارای یک دمین[1] اتصال به DNA، شامل انگشت روی[2]، یک ناحیه لولای انعطاف پذیر[3]، یک دامنه اتصال به لیگاند و دو دامنه عملکردی می‌باشد (Krylova et al. 2005; Sablin et al. 2009; Hoivik et al. 2010). مولکول *NR5A1* در سلول‌های سرتولی و لیدیگ بیضه در حال تکوین، سلول‌های سرتولی قبل از بلوغ، بیضه بزرگسالان، انواع متعدد سلول‌های جنینی و تخمدان بالغ بیان می‌شود و به صورت مونومر به DNA متصل می‌شود (Ikeda et al. 1994; Morohashi et al. 1994; Hanley et al. 1999). این مولکول با تنظیم مثبت SOX9[4] و هورمون آنتی مولرین[5] (AMH) در تمایز بیضه پستانداران نقش دارد (Lin and Achermann, 2008; Sekido et al. 2008). مولکول *NR5A1*، بیان بسیاری از فاکتورهای درگیر در متابولیسم کلسترول و بیوسنتز هورمون‌های استروئیدی مثل HMG-CoA ردوکتاز[6]، پروتئین تنظیم کننده استروئیدوژنیک (StAR)[7]، ۳- بی-هیدروکسی استروئید دهیدروژناز (3bHSD)[8] و چندین سیتوکروم P450 استروئید هیدروکسیلاز را تعدیل می‌کند (Lin and Achermann, 2008). جهش در ژن *NR5A1* با طیف وسیعی از فنوتیپ‌ها، شامل هیپرید گنادی و ناکفایتی تخمدانی اولیه نیز ارتباط دارد (Lin and Achermann, 2008; Sekido et al. 2008; Lourenco et al., 2009). ژن *NR5A1*، دارای دو جهش مهم ۳۶۸G>C و ۳۸۶C>T می‌باشد. هر دوی این جابجایی‌ها در ناحیه اگزونی *NR5A1* دیده می‌شود (شکل ۱A). ترانسورژن[9] ۳۶۸G>C سبب جابجایی آلانین به جای گلایسین در جایگاه ۱۲۳ پروتئین (Gly123Ala) می‌شود در حالی‌که ترانسورژن ۳۶۸G>C سبب جایگزینی اسید آمینه لوسین به‌جای پرولین در جایگاه ۱۲۹ پروتئین *NR5A1* (Pro129Leu) می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط این دو جابجایی در ژن *NR5A1* با ناباروری ایدیوپاتیک مردان است.

## مواد و روش‌ها

گروه بیمار و شاهد

در این مطالعه از تعداد ۱۴۵ مرد مراجعه کننده به مرکز IVF بیمارستان فاطمه الزهرا (س) بابل ۷۰ مرد نابارور با میانگین سنی ۵/۵۴ ± ۳۱/۹۸ به‌عنوان گروه بیمار و ۷۵ مرد سالم با میانگین سنی ۵/۲۱ ± ۳۵/۷۵ به‌عنوان گروه شاهد انتخاب شد. از هریک از افراد سالم و بیمار مقدار دو میلی‌لیتر خون در داخل تیوب‌های استریل حاوی ضدانعقاد سیترات سدیم، جمع آوری و در ۲۰°C– ذخیره شد. همه افراد مورد مطالعه، فرم رضایت آگاهانه مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بابل را امضاء کردند.

[1] Domain
[2] Zinc fingers
[3] Flexible hinge region
[4] Sex determining region Y-box9
[5] Anti Mullerian Hormone
[6] 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase
[7] Steroidogenic acute regulatory protein
[8] 3-beta–hydroxysteroid dehydrogenase
[9] Transversion

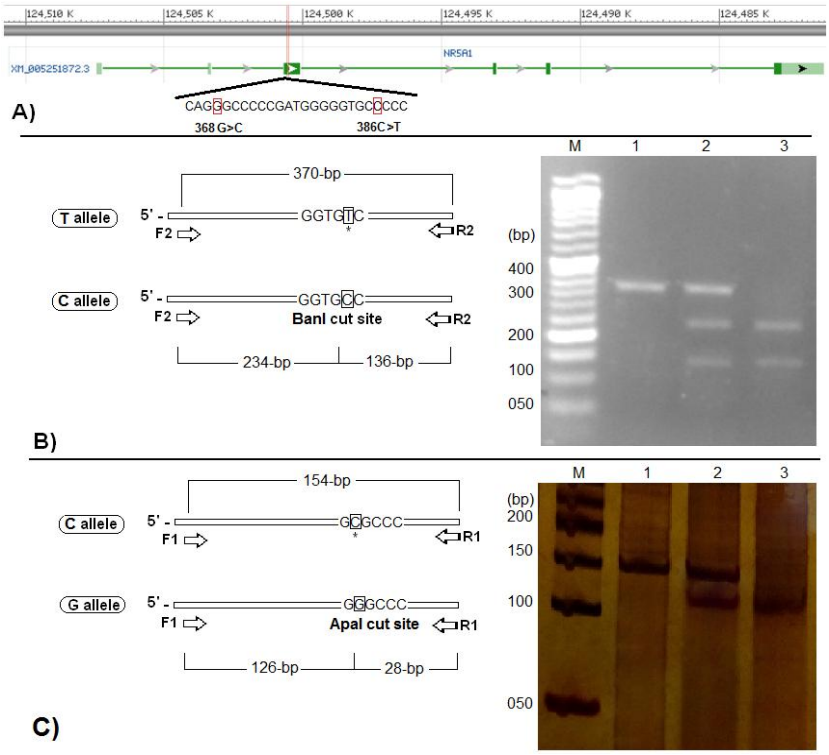


[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-02 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.1.2.5 ]

استخراج DNA و PCR-RFLP

استخراج DNA ژنومی با استفاده از کیت DNG-plus™ (SinaClon; Iran) انجام شد و کیفیت و غلظت DNA استخراج شده توسط اسپکتروفتومتری به روش عمومی (Sambrook and Russell 2001) انجام شد. برای طراحی آغازگرهای اختصاصی جهت تکثیر ناحیه حاوی جابجایی‌های C>G۳٦۸ و T>C۳۸٦ ژن *NR5A1*، ابتدا توالی کامل ژن از بانک ژنی NCBI بدست آمد (Accession No: NC_000009) و آغازگرها توسط نرم افزار Oligo6 طراحی و توسط شرکت Bioneer (کره جنوبی) سنتز شدند (جدول ۱). جهت تکثیر ناحیه حاوی C>G۳٦۸ و T>C۳۸٦، PCR در حجم ۲۵ µl شامل ۰/۵ µM از هر یک از آغازگرهای رفت و برگشت؛ ۰/۲ µM مخلوط dNTP؛ ۱/۵ mM محلول $MgCl_2$؛ نانوگرم DNAی الگو و ۰/۲ U آنزیم *Taq* پلیمراز (سینا ژن) انجام شد. واکنش PCR توسط دستگاه ترموسایکلر (peqSTAR: German) و با شرایط دمای واسرشت اولیه ۹٤°C به‌مدت ۵ دقیقه همراه با ۳۵ چرخه تکراری با دمای واسرشت ۹٤°C به‌مدت ۳۰ ثانیه، دمای اتصال۵۵°C برایG>C ۳٦۸ و ۵۵°C برای T>C۳۸٦ به مدت ۳۰ ثانیه و دمای بسط ۷۲°C به‌مدت ٤۵ ثانیه و بسط نهایی ۷۲°C به مدت ٤ دقیقه انجام شد. طول محصولات PCR در جدول ۱ ارائه شد.

مطالعه ژنوتیپ موتانت‌های C>G۳٦۸ و T>C۳۸٦، با استفاده از تکنیک PCR-RFLP و مطابق جدول ۱ انجام شد. برای این منظور محصولات PCR آغازگر F1/R1 (حاوی C>G۳٦۸) و F2/R2 (حاوی T>C۳۸٦) به‌ترتیب با استفاده از آنزیم *Apa*I و *Ban*I مورد هضم آنزیمی قرار گرفتند. به منظور تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها، الگوی هضم آنزیمی برای موتاسیون T>C۳۸٦ در ژل آگارز دو درصد و برای موتاسیون C>G۳٦۸ در ژل پلی اکریل آمید هشت درصد بررسی شد. همچنین ژل‌های آگارز با اتیدیوم برماید ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و ژل پلی آکریل آمید با نیترات نقره به روش عمومی رنگ‌آمیزی شدند (Sambrook and Russell 2001).




شکل ۱- نقشه ژن *NR5A1*، شماتیک و الگوی هضم آنزیمی در ژل آگارز و پلی اکریل آمید. A) نقشه ژنی *NR5A1* که دارای ۹ اگزون می‌باشد و جهش‌های T>G۳۸٦ و C>G۳٦۸ روی اگزون شماره ۳ قرار دارند؛ B) شماتیک و الگوی ژنوتیپی T>G۳۸٦ در ژل آگارز. ستون M) مارکر ۵۰ جفت بازی؛ ستون۱) محصول PCR؛ ستون۲) ژنوتیپ CT؛ ستون۳) ژنوتیپ CC؛ C) شماتیک و الگوی ژنوتیپی C>G۳٦۸ در ژل پلی آکریل آمید. ستونM) مارکر ۵۰ جفت بازی؛ ستون۱) ژنوتیپ CC؛ ستون۲) ژنوتیپ GC؛ ستون۳) ژنوتیپ GG.



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-02 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.1.2.5 ]

جدول ۱- توالی آغازگرها، طول قطعات تکثیر شده، آنزیم‌های محدودکننده و محصولات هضم آنزیمی

| SNP | نام آغازگر | توالی آغازگر (۳'-۵') | اندازه محصولات PCR به جفت باز | آنزیم برشی | طول محصولات هضم آنزیمی(bp | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ژنوتیپ وحشی | ژنوتیپ موتانت | ژنوتیپ هتروزیگوت |
| ۳٦۸G>C | F1 | 5'- CGGGCCAATGGCTTCAAGCTGGAG | ۱۵٤ | *Apa*I | ۲۸ ,۱۲٦ | ۱۵٤ | ۲۸ ,۱۲٦ ,۱۵٤ |
| | R1 | 5'- CAAAGTCGCCCAGTGGCCCAGC | | | | | |
| ۳۸٦C>T | F2 | 5'- GAGAGAGCGGTCAGATTTGTTTGG | ۳۷۰ | *Ban*I | ۲۳٤ ,۱۳٦ | ۳۷۰ | ۱۳٦ ,۲۳٤ ,۳۷۰ |
| | R2 | 5'- CGGCCATGGGCAGTGCTGGGGC | | | | | |

تجزیه و تحلیل آماری

برای مقایسه توزیع فراوانی آللی و ژنوتیپی جهش‌های ۳٦۸ G>C و ۳۸٦C>T در گروه کنترل و بیمار از تست مربع کای استفاده شد. از OR برای تعیین ارتباط نسبی واریته‌های مورد مطالعه با ناباروری استفاده شد. تجزیه داده‌ها با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱٦ انجام شد.

## نتایج

تعیین ژنوتیپ ۳٦۸G>C به‌وسیله روش PCR-RFLP و با کمک آنزیم *Apa*I انجام شد. پس از هضم آنزیمی قطعه ۱۵٤ جفت بازی، نمونه‌های با ژنوتیپ وحشی (GG) دارای قطعات ۱۲٦ و ۲۸ جفت بازی بودند درحالی‌که نمونه‌های موتانت (CC) فقط دارای یک باند با ۱۵٤ جفت باز و نمونه‌های هتروزیگوت (GC) دارای سه باند ۱۵٤، ۱۲٦ و ۲۸ جفت بازی روی ژل آکریل آمید بودند (شکل 1B). جهت تعیین ژنوتیپ ۳۸٦C>T از آنزیم *Ban*I استفاده شد. همان‌طور که در شکل 1C نشان داده شد، نمونه‌های با ژنوتیپ CC، دارای دو باند ۲۳٤ و ۱۳٦ جفت بازی بوده و فقط یک نمونه هتروزیگوت دارای ۳ باند ۱۳٦، ۲۳٤ و ۳۷۰ جفت بازی روی ژل آگارز بود در حالی‌که نمونه فاقد برش با ژنوتیپ TT، یافت نشد.

فراوانی ژنوتیپ‌های GG ۳٦۸، GC ۳٦۸ و CC ۳٦۸ در گروه کنترل به‌ترتیب برابر با ۹٤/٦۷ درصد، ۵۰/۳۳ درصد و صفر درصد بود درحالی‌که این فراوانی‌ها در افراد نابارور برابر ۹۰/۰۰، ۸۰/۵۷ و ۱۰/٤۳ درصد بود (جدول ۲). آنالیز آماری نشان داد که هیچ‌یک از ژنوتیپ‌های GC (*P*=۰/٤۳، CI=۰/٤٦-٦/۲٦ ۹۵٪ و OR=۱/٦۹) و یا CC (*P*=۰/٤٦، CI=۰/۱۳-۸٤/٤۱ ۹۵٪ و OR=۳/۳۸) با ناباروری مردان ارتباط ندارد. همچنین حاملین آلل C (GC+CC) هم در معرض ریسک ابتلا به ناباروری نبودند (P=۰/۳۰، CI =۰/۵۵-۷/۰۵ ۹۵٪ و OR=۱/۹۷) مقایسه فراوانی آللی بین گروه کنترل و بیمار هم نشان داد که این آلل فاقد ارتباط با ناباوری می‌باشد (*P*=۰/۲۰، CI=۰/٦۵-۷/۵۲ ۹۵٪ و OR=۲/۲۱). در مورد جایگاه ۳۸٦C>T، فقط یک نمونه در گروه کنترل دارای ژنوتیپ CT بود و بقیه نمونه‌ها دارای ژنوتیپ CC بودند. بنابراین ژنوتیپ CT ( *P*=۰/۵۲، CI=۰/۰۱-۸/۷۹ ۹۵٪ و OR=۰/۳۵) و آلل T ( *P*=۰/۵۳، CI=۰/۰۱-۸/۷۸ ۹۵٪ و OR=۰/۳۵) فاقد ارتباط با ناباروری مردان بود.

## بحث

ژن‌های متعددی هستند که پروتئین کد شده توسط آن‌ها می‌تواند در تکوین گنادها نقش اساسی داشته باشد. از جمله این ژن‌ها می‌توان به *DAX1*، *WT1*، *WNT4*، *SOX9*، *NR5A1* و *SRY* اشاره کرد. پروتئین *NR5A1* در کنترل تکوین جنسیتی در دوران جنینی و بلوغ نقش دارد. این پروتئین یک فاکتور رونویسی درون سلولی است که توسط ژن *NR5A1* کد می‌شود. پروتئین SF1 در دوران جنینی به همراه پروتئین SRY (Sex-determining region Y) کمپلکس رونویسی جهت افزایش بیان *SOX9* تشکیل می‌دهد (Sekido et al. 2008). محصول ژن *SRY* که باعث تمایز سلول‌های پیش‌ساز به سلول‌های سرتولی می شود دارای دمین اتصال (HMG)-box می‌باشد که از این طریق به DNA متصل می‌شود (Koopman et al. 1991). ژن‌های خانواده SOX هم دارای همین دمین (HMG)-box می‌باشند (Sekido et al. 2008). جایگاه‌های اتصال پروتئین‌های SRY و SF1 به ناحیه تنظیمی ژن *SOX9* نزدیک به هم می‌باشد. بنابراین این دو فاکتور رونویسی در مجاورت هم قرار گرفته و باعث افزایش بیان *SOX9* می‌شوند (McElreavey et a. 1993). پس از خاموشی ژن *SRY*، بیان ژن



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-02 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.1.2.5 ]

SOX9 به‌وسیله فاکتورهایی مانند SF1 در سلول‌های سرتولی بالا باقی می‌ماند و باعث تمایز سلول‌های سرتولی می‌شوند (De santa Barbara et al. 1998). همچنین پروتئین SOX9 به همراه SF1 یک کمپلکس رونویسی برای ژن‌های پایین دست از جمله هورمون آنتی مولرین تشکیل می‌دهد (Arango et al. 1999). هورمون آنتی مولرین به نوبه خود باعث مهار تکوین مجرای مولرین در جنس نر می‌شود (Behringer 1994). بنابراین پروتئین SF1 بوسیله برهم‌کنش با SOX9 و SRY نقش‌های کلیدی در تکوین گنادهای نر و در عملکردهای بعدی آن‌ها دارد. پس هر نوع تغییر در ژن *NR5A1* می‌تواند تکوین گنادهای نر و سیستم تولیدمثلی مردان را تحت تأثیر قرار دهد. تا به امروز مطالعات اندکی روی ارتباط ژن *NR5A1* با ناباروری در مردان انجام شده است. موتاسیون‌های بدمعنی[1] در ژن *NR5A1*، قبلا به‌عنوان فاکتوری پر خطر در ابتلا به ناباروری در مردان گزارش شده است (Bashamboo et al. 2010). از آنجاکه ژن *NR5A1* در حرکت اسپرم دخیل می‌باشد، بنابراین در این مطالعه افراد نابارور که دچار اختلالات حرکتی اسپرم (آستنواسپرم) بودند انتخاب شدند. نتایج این مطالعه نشان داد که دو جهش ۳٦۸G>C و ۳۸٦C>T ژن *NR5A1* با آستنواسپرمی در مردان ارتباط ندارد. همچنین نتایج نشان داد که فراوانی این جهش‌ها در جمعیت مورد مطالعه ما بسیار پایین می‌باشد. به‌خصوص در مورد جهش ۳۸٦C>T، که فقط یک نمونه در گروه کنترل دارای ژنوتیپ CT بود و بقیه نمونه‌ها دارای ژنوتیپ CC بودند. مطالعه Bashamboo et al. (2010) نشان داد که ژن *NR5A1* با بسیاری از اختلالات اسپرمی با دلایل ناشناخته ارتباط دارد. آن‌ها همچنین نشان دادند که افراد آزواسپرم مورد مطالعه آن‌ها با خطر اختلالات اندوکرین هم مواجه هستند. حدود ۱۵-۱۲ درصد افراد مورد مطالعه آن‌ها سطح تستوسترون پایین و LH بالایی داشتند. گروه عمده‌ای از این افراد دچار موتاسیون در ژن *NR5A1* بودند. موتاسیون‌هایی که این محققین گزارش کردند، در ناحیه لولا و یا ناحیه اتصال به لیگاند پروتئین واقع شد. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که ۳٦۸G>C و ۳۸٦C>T در نواحی مرکزی و شمالی آفریقا وجود دارد. از طرفی مطالعه Lourenco et al. (2009) هم نشان داد که این موتاسیون‌ها در یک دختر بومی غرب آفریقا وجود دارد. این مسئله نشان می‌دهد که فراوانی این موتاسیون‌ها، در جمعیت‌های غیر آفریقایی، مانند جمعیت قفقازی و یا آسیایی کمتر است. فراوانی این جهش‌ها در افراد با سن بالاتر، بیشتر بود. اکثرا افراد گروه نابارور که دارای این جهش‌ها بودند، سن بالایی داشتند. بنابراین به‌نظر می‌رسد که افراد دارای این جهش با افزایش سن‌شان بیشتر در معرض ابتلا به ناباروری قرار گیرند. بنابراین سن به‌عنوان یک فاکتور محیطی اصلی در نظر گرفته می‌شود (Bashamboo et al. 2010). اما فقدان این جهش‌ها در گروه کنترل نشان داد که این جهش‌ها دارای فروانی پایینی در جمعیت می‌باشند (Bashamboo et al. 2010). بر خلاف این دو موتاسیون، واریته Gly146Ala (rs1110061) رایج‌تر از بقیه می‌باشد. در مطالعه‌ای بر روی ٤٨٨ مرد نابارور برای غربالگری موتاسیون‌های *NR5A1* مشخص شد که سه موتاسیون بدمعنی Gly165Arg، Asp257Asn و Ile323Thr در مردان آزواسپرم، کریپتواسپرم و الیگواسپرم یافت شد (Röpke et al. 2013). این موتاسیون‌ها نیز در ناحیه لولایی (آمینواسیدهای ۲۲۵-۹۵) و اتصال به لیگاند پروتئین بودند. موتاسیون Gly165Arg در ناحیه لولایی و موتاسیون‌های Asp257Asn و Ile323Thr در ناحیه اتصال به لیگاند پروتئین یافت شد. Röpke et al. (2013)، فراوانی موتاسیون‌های مذکور را در مردان نابارور، حدود یک درصد گزارش کردند در حالی‌که در مطالعه دیگر موتاسیون‌های مورد بررسی (Gly123Ala و Pro129Leu) در مردان نابارور حدود ٤ درصد گزارش شد (Bashamboo et al. 2010). علت اختلافات می تواند به دلیل اختلافات نژادی، جغرافیایی و ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه باشد. Röpke et al. (2013)، ۱۰ موتاسیون موجود در ژن *NR5A1* را در افراد نابارور بررسی کردند و نشان دادند همه موتاسیون‌هایی که آن‌ها بررسی کردند از نوع بدمعنی بوده که یا در ناحیه اتصال به لیگاند و یا ناحیه لولایی پروتئین وجود داشت. از میان ۱۰ موتاسیون، فقط موتاسیون c.437G>C دارای فراوانی بالایی در جمعیت بود. البته فراوانی این جهش به طور معنی‌داری در افراد نابارور هم بالا بود (Röpke et al. 2013).

Bashamboo et al. (2010) هم فراوانی این موتاسیون‌ها را بسیار پایین گزارش کردند. مطالعه پلی‌مورفیسم‌های با فراوانی زیاد

[1] Missense



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-02 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.1.2.5 ]

مرسوم‌تر می‌باشد اما محققان، موتاسیون‌های با فراوانی کم را هم مطالعه می‌کنند. به‌طور مثال Tu¨ttelmann et al. (2009) دو جهش نادر c.54G>A و c.102G>T در ژن پروتامین را در افراد نابارور بررسی کردند. همچنین گروه دیگری از محققان موتاسیون‌های موجود در ژن *CFTR* را بررسی کردند (Meschede et al. 1997). در مطالعه حاضر، دو موتاسیون نادر ژن *NR5A1* بررسی شد زیرا ۱) تاکنون در جمعیت مردان ایرانی، چنین مطالعه‌ای انجام نشده بود و فراوانی آن‌ها در جمعیت مردان ایرانی نامشخص بود؛ ۲) این جهش‌ها در ناحیه کدکننده ژن قرار دارد و باعث جایگزینی اسید آمینه می‌شوند و از طرفی جایگاه این موتاسیون‌ها در نزدیکی مناطق حساس (در ناحیه لولایی و ناحیه اتصال به لیگاند) پروتئین NR5A1 قرار گرفته، بنابراین می‌تواند اثرات زیادی بر ساختار و عملکرد پروتئین داشته باشد.

ارتباط موتاسیون‌های ژن *NR5A1* با اختلالات اسپرم‌زایی توسط یک‌سری از مکانیسم‌های مولکولی دیگری نیز توجیه شد از جمله اینکه موش‌هایی که ژن *NR5A1* در سلول‌های لیدیگ آن‌ها غیر فعال شده بود، دارای بیضه‌های هایپوپلاستیک بوده، توبول‌های سمینیفروس آن‌ها مسدود و اسپرماتوگونیا به اسپرم بالغ تبدیل نمی‌شد و بیان ژن‌های *Cyp11a* و *StAR* (دو ژن کلیدی در بیوسنتز تستوسترون) نیز در این موش‌ها کاهش یافت (Jeyasuria et al. 2004). همچنین در مطالعه دیگر سطح بیان *NR5A1* در بافت گنادی مردان آزواسپرم با افزایش غلظت تستوسترون سرم ارتباط مثبتی را نشان داد که نشان دهنده یک ارتباط مستقیم بین این دو فاکتور است (Kojima et al. 2006). در موش‌های فاقد ژن‌های *NR5A1* و *NR5A1* اختلالاتی همچون نارسایی در هیپوفیز قدامی که منجر به سطوح پایین LH و FSH، هایپوگنادیسم، کاهش تعداد سلول‌های لیدیگ، فقدان اسپرماتید بالغ و در نتیجه ابتلا به ناباروری گزارش شد (Zhao et al. 2001)، که بیانگر نقش اساسی NR5A1 در سیستم تولید مثلی مردان است.

ذکر این نکته مهم است که تمامی جهش‌هایی که منجر به تغییر احتمالی فعالیت ژن *NR5A1* می‌شوند در تحقیق حاضر مورد بررسی قرار نگرفت. لذا بررسی بیشتری در خصوص ژن *NR5A1* از جمله رابطه سایر SNPهای موجود در پروتئین NR5A1 با ناباروری مردان بایستی انجام شود. از سوی دیگر 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 ژن‌ها و تأثیر متقابل آن‌ها بر یکدیگر نیز مورد بررسی قرار گیرند.

جدول۲- فراوانی آللی و ژنوتیپی ۳٦۸G>C در گروه بیمار و سالم

| ژنوتیپ/آلل | تعداد و درصد | | OR (95% CI) | *P*-value |
|---|---|---|---|---|
| | بارور (n=۷۵) | نابارور (n=۷۰) | | |
| GG | ۷۱ (٪۹٤/٦۷) | ٦۳ (٪۹۰/۰۰) | - | - |
| GC | ٤ (٪۵/۳۳) | ٦ (٪۸/۵۷) | ۰۱/٦۹ (۰/٤٦-٦/۲٦) | ۰/٤۳ |
| CC | ۰ (٪۰/۰۰) | ۱ (٪۱/٤۳) | ۳/۳۸ (۰/۱۳-۸٤/٤۱) | ۰/٤٦ |
| GC+CC | ٤ (٪۵/۳۳) | ۷ (٪۱۰/۰۰) | ۱/۹۷ (۰/۵۵-۷/۰۵) | ۰/۳۰ |
| G | ۱٤٦ (٪۹۷/۳۳) | ۱۳۲ (٪۹٤/۲۹) | - | - |
| C | ٤ (٪۲/٦۷) | ۸ (٪۵/۷۱) | ۲/۲۱ (۰/٦۵-۷/۵۲) | ۰/۲۰ |



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-02 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.1.2.5 ]

## منابع

Arango NA, Lovell-Badge R, Behringer RR (1999) Targeted mutagenesis of the endogenous mouse Mis gene promoter: in vivo definition of genetic pathways of vertebrate sexual development. Cell 99:409-419.

Bashamboo A, Ferraz-de-Souza B, Lourenço D, Lin L, Sebire NJ, Montjean D, Bignon-Topalovic J, Mandelbaum J, Siffroi JP, Christin-Maitre S, Radhakrishna U, Rouba H, Ravel C, Seeler J, Achermann JC, McElreavey K (2010) Human male infertility associated with mutations in NR5A1 encoding steroidogenic factor 1. American Journal of Human Genetics 87:505-512.

Cantú JM, Rivas F, Hernández-Jáuregui P, Díaz M, Cortés-Gallegos V, Vaca G, Velázquez A, Ibarra B (1981) Meiotic arrest at first spermatocyte level: a new inherited infertility disorder. Human Genetics 59:380-385.

De Santa Barbara P, Bonneaud N, Boizet B, Desclozeaux M, Moniot B, Sudbeck P, Scherer G, Poulat F, Berta P (1998) Direct interaction of SRY-related protein SOX9 and steroidogenic factor 1 regulates transcription of the human anti-Müllerian hormone gene. Molecular and Cellular Biology 18:6653-6665.

Gianotten J, Westerveld GH, Leschot NJ, Tanck MW, Lilford RJ, Lombardi MP, van der Veen F (2004) Familial clustering of impaired spermatogenesis: no evidence for a common genetic inheritance pattern. Human Reproduction 19:71-76.

Hanley NA, Ball SG, Clement-Jones M, Hagan DM, Strachan T, Lindsay S, Robson S, Ostrer H, Parker KL, Wilson DI (1999) Expression of steroidogenic factor 1 and Wilms tumour 1 during early human gonadal development and sex determination. Mechanism of Development 87:175-180.

Hoivik EA, Lewis AE, Aumo L, Bakke M (2010) Molecular aspects of steroidogenic factor 1 (SF-1). Molecular and Cellular Endocrinology 315:27-39.

Ikeda Y, Shen WH, Ingraham HA, Parker KL (1994) Developmental expression of mouse steroidogenic factor-1, an essential regulator of the steroid hydroxylases. Molecular Endocrinology 8:654-662.

Jeyasuria P, Ikeda Y, Jamin SP, Zhao L, De Rooij DG, Themmen AP, Behringer RR, Parker KL (2004) Cell-specific knockout of steroidogenic factor 1 reveals its essential roles in gonadal function. Molecular Endocrinology 18:1610-1619.

Karimian M, Colagar AH (2014) Association of C677T transition of the human methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene with male infertility. Reproduction Fertility and Development.

Kojima Y, Sasaki S, Hayashi Y, Umemoto Y, Morohashi K, Kohri K (2006) Role of transcription factors Ad4bp/ SF-1 and DAX-1 in steroidogenesis and spermatogenesis in human testicular development and idiopathic azoospermia. International Journal of Urology 13:785-793.

Koopman P, Gubbay J, Vivian N, Goodfellow P, Lovell-Badge R (1991) Male development of chromosomally female mice transgenic for Sry. Nature 351:117-121.

Krylova IN, Sablin EP, Moore J, Xu RX, Waitt GM, MacKay JA, Juzumiene D, Bynum JM, Madauss K, Montana V, Lebedeva L, Suzawa M, Williams JD, Williams SP, Guy RK, Thornton JW, Fletterick RJ, Willson TM, Ingraham HA (2005) Structural analyses reveal phosphatidyl inositols as ligands for the NR5 orphan receptors SF-1 and LRH-1. Cell 120:343-355.

Lin L, Achermann JC (2008) Steroidogenic factor-1 (SF-1, Ad4BP, NR5A1) and disorders of testis development. Sexual Development 2:200-209.

Lourenço D, Brauner R, Lin L, De Perdigo A, Weryha G, Muresan M, Boudjenah R, Guerra-Junior G, Maciel-Guerra AT, Achermann JC, McElreavey K, Bashamboo A (2009) Mutations in NR5A1 associated with ovarian insufficiency. New England Journal of Medicine 360:1200-1210.

Luo X, Ikeda Y, Parker KL (1994) A cell-specific nuclear receptor is essential for adrenal and gonadal development and sexual differentiation. Cell 77:481-490.

Meschede D, Dworniczak B, Behre HM, Kliesch S, Claustres M, Nieschlag E, Horst J (1997) CFTR gene mutations in men with bilateral ejaculatory-duct obstruction and anomalies of the seminal vesicles. American Journal of Human Genetics 61:1200-1202.

McElreavey K, Vilain E, Abbas N, Herskowitz I, Fellous M (1993) A regulatory cascade hypothesis for mammalian sex determination: SRY represses a negative regulator of male development. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 90:3368-3372.

McLachlan RI, O'Bryan MK (2010) State of the art for genetic testing of infertile men. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 95:1013-1024.

Morohashi K, Honda S, Inomata Y, Handa H, Omura T (1992) A common trans-acting factor, Ad4-binding protein, to the promoters of steroidogenic P-450s. Journal of Biological Chemistry 267:17919-17913.

Morohashi K, Iida H, Nomura M, Hatano O, Honda S, Tsukiyama T, Niwa O, Hara T, Takakusu A, Shibata Y, (1994) Functional difference between Ad4BP and ELP, and their distributions in steroidogenic tissues. Molecular Endocrinology 8:643-653.

Nikzad H, Karimian M, Sareban K, Khoshsokhan M, Colagar AH (2015) MTHFR-Ala222Val and male infertility: a study in Iranian men, an updated meta-analysis and an in silico-analysis. Reproductive biomedicine online 31:668-680.

O'Flynn O'Brien KL, Varghese AC, Agarwal A (2010) The genetic causes of male factor infertility: a review. Fertility and Sterility 93:1-12.

Paliwal P, Sharma A, Birla S, Kriplani A, Khadgawat R, Sharma A (2011) Identification of novel SRY mutations and SF1 (NR5A1) changes in patients with pure gonadal dysgenesis and 46,XY karyotype. Molecular Human Reproduction 17:372-378.

Röpke A, Tewes AC, Gromoll J, Kliesch S, Wieacker P, Tüttelmann F (2013) Comprehensive sequence analysis of the NR5A1 gene encoding steroidogenic factor 1 in a large group of infertile males. European Journal of Human Genetics 21:1012-1015.



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-02 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.1.2.5 ]

Sablin EP, Blind RD, Krylova IN, Ingraham JG, Cai F, Williams JD, Fletterick RJ, Ingraham HA (2009) Structure of SF-1 bound by different phospholipids: evidence for regulatory ligands. Molecular Endocrinology 23:25-34.

Sambrook J, Russell D (2001) Molecular cloning: a laboratory manual; End r, editor: New York, Cold Spring Harbor Press. 1.116-1.118 p.

Sekido R, Lovell-Badge R (2008) Sex determination involves synergistic action of SRY and SF1 on a specific Sox9 enhancer. Nature 453:930-934.

Tuerlings JH, van Golde RJ, Oudakker AR, Yntema HG, Kremer JA (2002) Familial oligoasthenoteratozoospermia: evidence of autosomal dominant inheritance with sexlimited expression. Fertility and Sterility 77:415-418.

Tüttelmann F, Krenková P, Römer S, Nestorovic AR, Ljujic M, Stambergová A, Macek M Jr, Macek M Sr, Nieschlag E, Gromoll J, Simoni M (2010) A common haplotype of protamine 1 and 2 genes is associated with higher sperm counts. International Journal of Andrology 33:e240-248.

Zhao L, Bakke M, Krimkevich Y, Cushman LJ, Parlow AF, Camper SA, Parker KL (2001) Steroidogenic factor 1 (SF1) is essential for pituitary gonadotrope function. Development 128:147-154.

[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-02 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.1.2.5 ]