

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

پردیس بین الملل
زیست شناسی (ژنتیک)

عنوان:

بررسی پلی مورفیسم های C677T و A1298C ژن متیلن تتراهیدروفولات ردوکتاز

در ناباروری مردان

از

فاطمه بیطرفان

استاد راهنما :

دکتر مهرداد نوروزی نیا

استاد مشاور :

دکتر زیور صالحی

اسفند ۹۰

تقدیم به
پدر و مادر مهربانم

با سپاس از خداوند بزرگ و متعال که راه تحصیل علم و دانش را بر من گشود.

با تشکر فراوان از :

استاد راهنمای گرانقدرم، جناب آقای دکتر مهرداد نوروزی نیا که شرایط لازم برای انجام این مطالعه را فراهم نمودند و صمیمانه مرا در انجام این طرح یاری نمودند.

استاد عزیزم، سرکار خانم دکتر زیور صالحی که با مشاوره های ارزنده شان مرا در هر چه بهتر شدن این پایان نامه یاری نمودند.

اساتید محترم، جناب آقای دکتر فرهاد مشایخی و آقای دکتر فرزاد عجمیان که زحمت داوری پایان نامه ام را پذیرفتند.

پرسنل محترم بخش ژنتیک مولکولی بیمارستان صارم خصوصاً سرکار خانم خزامی پور که در طی مراحل مختلف اجرا و نگارش این پایان نامه همراه من بودند.

خانواده عزیزم که وجود و راهنمایی هایشان باعث دلگرمی من بود.

تمامی دوستان و عزیزانی که در طی این تحقیق به اینجانب یاری رساندند.

فصل اول:

۱-۱- ناباروری مردان	۲
۲-۱- ارزیابی مردان نابارور	۲
۳-۱- اسپرمتوزنز	۳
۱-۳-۱- اختلالات مربوط به اسپرم	۴
۴-۱- عوامل ایجاد کننده ناباروری در مردان	۶
۱-۴-۱- ساختار ژنتیکی معیوب DNA اسپرم	۷
۲-۴-۱- ناهنجاریهای کروموزومی	۷
۱-۲-۴-۱- اختلالات عددی کروموزوم های جنسی	۷
۲-۲-۴-۱- اختلالات ساختمانی کروموزوم های جنسی	۹
۳-۲-۴-۱- آنپلوئیدی و جابجایی بین اتوزوم ها	۱۱
۴-۲-۴-۱- موزایسیسم سلول های زاینده	۱۱
۳-۴-۱- موتاسیون های DNA میتوکندریایی و ناباروری مردان	۱۲
۴-۴-۱- اپی ژنتیک و نقش آن در ناباروری	۱۲
۵-۱- ژن های مرتبط با ناباروری مردان و پلی مورفیسم های ژنی	۱۳
۱-۵-۱- ژن CFTR	۱۴

- ۱۴-۲-۵-۱- ژن گیرنده آندروژن.....
- ۱۵-۳-۵-۱- INSL3-LGR8 ژن های.....
- ۱۶-۶-۱- MTHFR ژن.....
- ۱۶-۱-۶-۱- جایگاه و ساختمان ژن MTHFR ، رونوشت و پروتئین آن.....
- ۱۷-۲-۶-۱- عملکرد پروتئین MTHFR.....
- ۲۰-۳-۶-۱- جهش ها و پلی مورفیسم های ژن MTHFR.....
- ۲۱-۱-۳-۶-۱- پلی مورفیسم C677T در ژن MTHFR.....
- ۲۳-۲-۳-۶-۱- پلی مورفیسم A1298C در ژن MTHFR.....
- ۲۳-۳-۳-۶-۱- سایر پلی مورفیسم ها.....
- ۲۳-۷-۱- اسید فولیک و نقش آن در باروری مردان.....
- ۲۴-۱-۷-۱- متابولیسم اسید فولیک.....
- ۲۵-۲-۷-۱- نیاز روزانه به اسیدفولیک.....
- ۲۶-۳-۷-۱- چرخه اسیدفولیک.....
- ۲۸-۴-۷-۱- آنزیم ها و ژن های فعال در چرخه اسیدفولیک.....
- ۲۹-۸-۱- اهداف پایان نامه.....

فصل دوم: مواد و روش ها

- ۳۱-۱-۲- تهیه نمونه های خون.....
- ۳۱-۲-۲- استخراج DNA از خون به روش Salting out.....

- ۳۱-۲-۱- مواد، محلول ها و وسایل لازم جهت استخراج DNA از خون.....
- ۳۲-۲-۲- مراحل استخراج.....
- ۳۴-۲-۳- بررسی کیفیت DNA.....
- ۳۴-۲-۴- الکتروفورز روی ژل آگارز.....
- ۳۴-۲-۱- مواد و محلول های لازم جهت تهیه ژل آگارز و الکتروفورز.....
- ۳۵-۲-۴-۲- روش تهیه محلول TBE.....
- ۳۵-۲-۴-۳- روش تهیه ژل آگارز.....
- ۳۵-۲-۴-۴- روش الکتروفورز افقی.....
- ۳۶-۲-۵- رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید و عکس برداری از ژل.....
- ۳۶-۲-۶- واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR).....
- ۳۷-۲-۱- مواد لازم جهت واکنش PCR.....
- ۳۸-۲-۶-۲- روش انجام PCR.....
- ۴۲-۲-۷- RFLP محصولات PCR با کمک آنزیم های محدود کننده.....
- ۴۳-۲-۱-۷- مواد و وسایل مورد نیاز.....
- ۴۵-۲-۷-۲- بررسی پلی مورفیسم C677T ژن MTHFR.....
- ۴۶-۲-۷-۳- بررسی پلی مورفیسم A1298C ژن MTHFR.....
- ۴۷-۲-۸- آنالیز آماری.....

فصل سوم: نتایج

- ۳-۱- بررسی کیفیت DNA..... ۴۹
- ۳-۲- انجام تکنیک های PCR و RFLP برای بررسی ناحیه C677T ژن MTHFR..... ۵۰
- ۳-۲-۱- تکثیر ژنی ناحیه C677T ژن MTHFR با روش PCR..... ۵۰
- ۳-۲-۲- RFLP محصول PCR مربوط به پلی مورفیسم C677T ژن MTHFR..... ۵۱
- ۳-۳- انجام تکنیک های PCR و RFLP برای بررسی ناحیه C677T ژن MTHFR..... ۵۶
- ۳-۳-۱- تکثیر ژنی ناحیه A1298C ژن MTHFR با روش PCR..... ۵۶
- ۳-۳-۵- RFLP محصول PCR مربوط به پلی مورفیسم A1298C ژن MTHFR..... ۵۶
- ۳-۶- بررسی توام فراوانی ژنوتیپ های C677T و A1298C..... ۶۱

فصل چهارم: بحث

- ۴-۱- بحث و نتیجه گیری..... ۶۴
- ۴-۲- نتیجه گیری و پیشنهادات..... ۷۱

جدول ۱-۱- میزان استاندارد پارامترهای منی مطابق با سازمان بهداشت جهانی.....	۵
جدول ۱-۲- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در واکنش های PCR.....	۳۷
جدول ۲-۲- مواد مورد نیاز PCR برای پلی مورفیسم های C677T و A1298C.....	۳۹
جدول ۳-۲- شرایط PCR برای پلی مورفیسم C677T.....	۴۰
جدول ۴-۲- شرایط PCR برای پلی مورفیسم A1298C.....	۴۱
جدول ۵-۲- مشخصات آنزیم های محدودالانتر و ژن جهش یافته.....	۴۲
جدول ۶-۲- مواد مورد نیاز جهت انجام هضم آنزیمی.....	۴۴
جدول ۱-۳- اندازه قطعات ایجاد شده در ژنوتیپ های مختلف C677T.....	۵۱
جدول ۲-۳- فراوانی و درصد ژنوتیپ های مربوط به پلی مورفیسم C677T.....	۵۴
جدول ۳-۳- اندازه قطعات ایجاد شده در ژنوتیپ های مختلف A1298C.....	۵۸
جدول ۴-۳- فراوانی و درصد ژنوتیپ های مربوط به پلی مورفیسم A1298C.....	۵۹
جدول ۵-۳- بررسی توام فراوانی ژنوتیپ های C677T و A1298C.....	۶۱

- شکل ۱-۱- تقسیمات سلول های زاینده در لوله های اسپرم ساز..... ۴
- شکل ۱-۲- محل قرارگیری ژن MTHFR ۱۶
- شکل ۱-۳- نقش آنزیم MTHFR در چرخه فولات..... ۱۹
- شکل ۱-۴- ساختمان شیمیایی اسیدفولیک..... ۲۵
- شکل ۱-۵- چرخه اسید فولیک..... ۲۷
- شکل ۱-۲- طرح شماتیک اثر آنزیم *HinfI* ۴۵
- شکل ۲-۲- طرح شماتیک اثر آنزیم *MboII* ۴۶
- شکل ۱-۳- DNA ژنومی استخراج شده (توسط روش نمک اشباع) روی ژل آگارز..... ۴۹
- شکل ۲-۳- ژل آگارز مربوط به الکتروفورز محصول PCR نمونه های C677T..... ۵۰
- شکل ۳-۳- توالی نوکلئوتیدی موقعیت کدون ۶۷۷..... ۵۲
- شکل ۳-۴- اثر آنزیم *HinfI* بر روی محصول PCR پلی مورفیسم C677T ژن MTHFR..... ۵۳
- نمودار ۳-۴- مقایسه ژنوتیپ های مربوط به پلی مورفیسم C677T ژن MTHFR..... ۵۵
- شکل ۳-۵- ژل آگارز مربوط به الکتروفورز محصول PCR نمونه های A1298C..... ۵۶
- شکل ۳-۶- اثر آنزیم *MboII* بر روی محصول PCR پلی مورفیسم A1298C ژن MTHFR..... ۵۷
- شکل ۳-۷- توالی نوکلئوتیدی موقعیت کدون ۱۲۹۸..... ۵۸
- نمودار ۳-۸- مقایسه ژنوتیپ های مربوط به پلی مورفیسم A1298C ژن MTHFR..... ۶۰

بررسی پلی مورفیسم های C677T و A1298C ژن متیلن تتراهیدروفولات ردوکتاز در ناباروری مردان

فاطمه بیطرفان

ناباروری زوج ها یک مشکل جهانی بوده و بر طبق آمار سازمان بهداشت جهانی تقریباً یک زوج از هر هفت زوج تحت تاثیر مشکلات باروری یا کاهش باروری قرار می گیرد. در ۵۰-۲۰ درصد موارد علت ناتوانی زوجین برای داشتن فرزند، ناباروری مردان می باشد. ناباروری مردان یک اختلال هتروژن ناشی از فاکتورهای متعدد ژنتیکی و محیطی می باشد که منجر به نقص در اسپرماتوژنز می گردند. بر اساس مطالعات، ارتباط مثبتی بین غلظت فولات سرم با میزان تراکم، حرکت و مورفولوژی نرمال اسپرم ها وجود دارد. بنابراین احتمالاً مسیر فولات در باروری مردان مهم می باشد. متیلن تتراهیدروفولات ردوکتاز (MTHFR) یک آنزیم کلیدی در متابولیسم فولات بوده و دارای نقش حیاتی در متعادل کردن ذخیره گروه های متیل بین سنتز DNA و متیلاسیون آن می باشد. متیلاسیون DNA یکی از ویژگی های اپی ژنتیکی مهم می باشد که نقش حیاتی در تنظیم بیان ژن در اسپرماتوژنز دارد. موتاسیون های C677T و A1298C در ژن MTHFR باعث کاهش فعالیت آنزیم و به دنبال آن ناباروری مردان در برخی جمعیت ها می شوند. در این پژوهش، ۳۰۳ مرد نابارور و ۳۰۰ مرد بارور ایرانی جهت مطالعه پلی مورفیسم C677T، ۱۳۱ مرد نابارور و ۱۳۰ مرد بارور ایرانی برای مطالعه پلی مورفیسم A1298C بررسی شدند. پس از استخراج DNA ژنومی از نمونه های خون این افراد، با استفاده از تکنیک PCR-RFLP بررسی انجام گرفت. در پلی مورفیسم C677T فراوانی ژنوتیپ های CC، CT و TT در افراد نابارور به ترتیب ۵۳/۷٪، ۳۶٪ و ۱۰/۳٪ و در افراد کنترل به ترتیب ۴۹/۸۳۵٪، ۴۰/۹۲۵٪ و ۹/۲۴٪ بود (P=۰/۴۵۸). در پلی مورفیسم A1298C فراوانی ژنوتیپ های AA، AC و CC در افراد نابارور به ترتیب ۴۱/۹۸٪، ۴۰/۴۶٪ و ۱۷/۵۶٪ و در افراد کنترل به ترتیب ۳۵/۳۸۵٪، ۵۵/۳۸۵٪ و ۹/۲۳٪ به دست آمد (P=۰/۰۶۶). در هر دو پلی مورفیسم تفاوت معنی داری در فراوانی ژنوتیپی بین افراد بیمار و کنترل مشاهده نشد (P>۰/۰۵). بررسی توام این دو پلی مورفیسم نشان دهنده ارتباط معنی دار بین هتروزیگوت های دو پلی مورفیسم C677T و A1298C در بین افراد بیمار و کنترل بود (P=۰/۰۳۵).

کلمات کلیدی: MTHFR، پلی مورفیسم ژنی، ناباروری مردان

Abstract

Analysis of Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) C677T and A1298C polymorphisms on male infertility

Fatemeh Bitarafan

Couple infertility is a global health problem and according to the World Health Organization approximately one couple in seven is affected by fertility or subfertility problems. Male infertility in humans has been acknowledged as the cause of couple's inability to have children in 20-50% of total cases. Male infertility is a heterogeneous disorder, with various genetic and environmental factors that contribute to the impairment of spermatogenesis. Studies have shown a positive correlation between serum folate concentrations and sperm density, percentage of sperm with progressive motility as well as percentage of sperm with normal morphology. So, folate pathway could be important in male infertility .

Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) is a key regulatory enzyme involved in the folate metabolism. It has a key role in balancing the pool of methyl groups between DNA synthesis and DNA methylation. DNA methylation is an important epigenetic feature of DNA that plays a pivotal role in regulation of gene expression during spermatogenesis. C677T and A1298C Mutations are known as causes of low MTHFR enzymatic activity, so polymorphic variants in the MTHFR gene may be associated with male infertility in some populations. To assess the relation between the C677T and A1298C polymorphisms and male infertility in Iran, we studied the C677T mutation in 303 infertile men and 300 fertile men as control and the A1298C mutation in 131 infertile men and 130 fertile men as control. Genomic DNA was extracted by salting out procedure. Detection of the MTHFR C677T and A1298C mutation was performed by PCR-RFLP analysis. The frequencies of CC, CT, and TT genotypes in patients were 53.7%, 36%, 10.3% and in controls were 49.835%, 40.925%, 9.24% respectively (P=0.458). The frequencies of AA, AC, and CC genotypes in patients were 41.98%, 40.46%, 17.56% and in controls were 35.385%, 55.385%, 9.23% respectively (P=0.066). Our findings suggest that there is no significant association of C677T and A1298C in the MTHFR gene with male infertility in assessed Iranian subpopulation. There is significant association of Heterozygosity in both polymorphisms, indicating that these polymorphisms together may play a role in infertility (P=0.035).

Key words: MTHFR, Gene polymorphism, Male infertility

فصل اول

مقدمه

۱-۱- ناباروری مردان

ناباروری به ناتوانی یک زوج در باردار شدن پس از یک سال رابطه جنسی و بدون استفاده از هر گونه روش های پیشگیری از بارداری اطلاق می گردد [Krausz, C., et al. 2000]. ناباروری یک مشکل جهانی بوده و تقریباً یک زوج از هر هفت زوج تحت تاثیر مشکلات ناباروری یا کاهش باروری قرار می گیرد [Randolph, L. M., et al. 1999]. بررسی های آماری مختلف نشان می دهند که شیوع ناباروری در جوامع بشری در حال رشد رو به افزایش است، لذا این امر یک مساله شایع و نگران کننده برای زوجین محسوب می شود. بر طبق مطالعه ای که در سال ۱۹۸۷ در چندین مرکز تحت نظارت سازمان جهانی بهداشت (World Health Organization) انجام شده است، در ۲۰٪ موارد ناباروری زوج ها تنها عوامل مردانه و در حدود ۳۸٪ تنها عوامل زنانه و در ۲۷٪ موارد هر دو فاکتورهای مردانه و زنانه با هم دخیل هستند. در ۱۵٪ باقیمانده هنوز علت مشخصی یافت نشده است. به این دسته از ناباروری ها ایدیوپاتیک گفته می شود بدین معنی که زن و شوهر با توجه به انجام آزمایش های موجود مشکلی ندارند ولی به علل نامشخصی بچه دار نمی شوند. ناباروری ایدیوپاتیک می تواند در اثر عواملی مانند بیماری های مزمن، سوء تغذیه، عوامل محیطی و یا اختلالات ژنتیکی باشد که هنوز نقش آن ها مشخص نشده است [Huynh, T., et al. 2002].

اگر چه علل ناباروری متعدددند و باید هر زوج به طور کامل مورد بررسی قرار گیرند، اما نقش مردان در ناباروری در مطالعات متعدد مورد بررسی قرار گرفته است. به عبارت دیگر ارزیابی و درمان مردان بیمار در مسیر حل مشکل ناباروری اهمیت فراوانی دارد.

۱-۲- ارزیابی مردان نابارور

تعیین علت دقیق بیماری که به درمان و تصمیم گیری فرد کمک می کند نیازمند یک ارزیابی دقیق و کامل است. ارزیابی اولیه ناباروری مردان باید شامل یک تاریخچه کامل پزشکی و تولید مثلی، آزمایش جسمانی توسط اورولوژیست یا سایر متخصصین تولید مثل مردان، و در نهایت آنالیز مایع منی باشد.

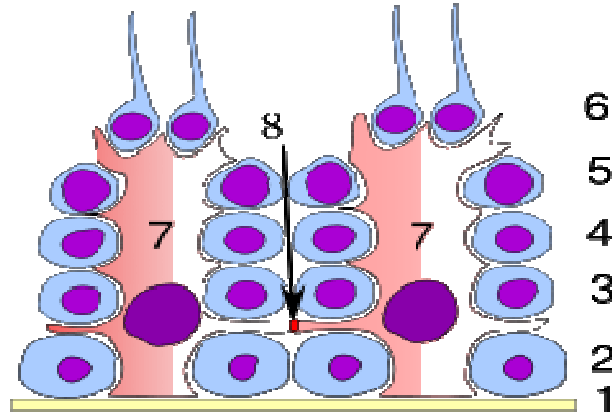
۳-۱- اسپرماتوزنز

از آنجا که اسپرماتوزنز کامل و بی نقص لازمه باروری است ابتدا به توضیح مختصری در مورد آن می پردازیم. تمایز سلولهای ژرم لاین از اسپرماتوگونیای به اسپرماتوزوا، اسپرماتوزنز نام دارد که در بلوغ شروع می شود. با فرا رسیدن زمان بلوغ، ساخت مداوم اسپرم در بیضه ها با سرعت حدود ۱۲۵ میلیون اسپرم در روز شروع می شود.

هر بیضه حاوی لوله هایی است که اسپرم می سازند^۱. سلول های بنیادی در دیواره داخلی توبول ها تقسیم می شوند و این تقسیمات مسیر centripetal (از دیواره شروع شده و به سمت داخلی تر پیشروی می کند) دارند (شکل ۱-۱). سپس اسپرم وارد اپیدیدیم می شود و گامت های در حال شکل گیری در آن بالغ می شوند و تا زمان انزال ذخیره می شوند. بلوغ اسپرم ها شامل بدست آوردن دم و توانایی تحرک است.

یک لوله دیگری به نام مجرای واژدفران، هر اپیدیدیم را به یک مجرای انزالی وصل می کند که این مجرا خود به پیشابراه وصل می شود. سه غده (یک جفت غده ساخت منی و یک غده پروستات)، مایعاتی را ترشح می کنند که وظیفه انتقال و تغذیه اسپرم را برعهده دارند. این ترشحات همراه اسپرم، مایعی به نام مایع منی را تشکیل می دهند.

اسپرماتوزنز را می توان به چند مرحله تقسیم کرد. مرحله اول اسپرماتوسیتوز است که منجر به تشکیل اسپرماتوسیت ها با نیمی از مواد ژنتیکی می شود. در این مرحله یک اسپرماتوگونیم دیپلوئید که در بخش بازال لوله های اسپرم ساز قرار دارد با تقسیم میتوز، سلول های دیپلوئید حدواسط بنام اسپرماتوسیت اولیه تولید می کند. این سلول های دیپلوئید سپس به سمت بخش مرکزی لوله حرکت کرده و DNA خود را دو برابر کرده و سپس با انجام تقسیم میوز I، اسپرماتوسیت ثانویه ایجاد می کند. مرحله دوم اسپرماتیدوزنز نام دارد که در این مرحله اسپرماتوسیت ثانویه سریعاً وارد میوز II شده و اسپرماتید هاپلوئید ایجاد می کند. مرحله بعد اسپرمیوزنز است که شامل تمایز و تغییر شکل اسپرماتید می باشد. از جمله این تغییرات می توان به تشکیل دم، ضخیم شدن ناحیه میانی و تجمع میتوکندری اشاره کرد. DNA که ابتدا با پروتئین های هسته ای بسته بندی شده بود، با جایگزینی این پروتئین ها توسط پروتامین ها بسیار فشرده می شود، دستگاه گلژی فشرده شده و آکروزوم ایجاد می شود، ارگانل ها و سیتوپلاسم اضافی توسط سلول های سرتولی فاگوسیت می شوند. اسپرماتید پس از طی مراحل فوق اسپرماتوزوا نام می گیرد که بالغ شده اما فاقد تحرک است و پس از انتقال به اپیدیدیم و بلوغ نهایی، قدرت تحرک و لقاح را به دست می آورد [Anonymous. 1998].



شکل ۱-۱- تقسیمات سلول های زاینده در لوله های اسپرم ساز.

۱- غشای پایه ۲- اسپرماتوگونیا ۳- اسپرماتوسیت اولیه ۴- اسپرماتوسیت ثانویه ۵- اسپرماتید ۶- اسپرماتوزوا ۷- سلول سرتولی ۸- سد خونی بیضه

۱-۳-۱- اختلالات مربوط به اسپرم

به طور طبیعی اگر در هر یک از فاکتورهای مرحله بلوغ ، تعداد ، شکل و توانایی حرکت مناسب اسپرم اختلالی وجود داشته باشد، شانس لقاح کم شده و مرد نابارور محسوب می شود.

ناباروری یک مشکل هتروژن است که فاکتورهای متعدد محیطی و ژنتیکی در آن دخیل می باشند. ناباروری مردان با چندین اختلال که شامل اختلال در تعداد، حرکت و ریخت شناسی اسپرم می شود مرتبط می باشد. میزان استاندارد پارامترهای منی مطابق با سازمان بهداشت جهانی در جدول ۱-۱ آمده است:

حجم	۲ میلی لیتر >
میزان اسیدیته (pH)	۷/۲-۷/۸
غلظت اسپرم	$20 \times 10^6/ml$ اسپرماتوزوآ
شمارش کلی اسپرم	40×10^6 > اسپرماتوزوآ در انزال
حرکت	٪۵۰ > حرکت جلو رونده
ریخت شناسی	٪۳۰ > فرم های استاندارد

جدول ۱-۱- میزان استاندارد پارامترهای منی مطابق با سازمان بهداشت جهانی

انواع متداول ناباروری با توجه به جدول ۱-۱ عبارتند از :

- ۱- آزواسپرمی (Azoospermia): به فقدان اسپرم در مایع انزال گفته می شود. آزواسپرمی به دو گروه آزواسپرمی انسدادی و غیرانسدادی تقسیم می شود.
- آزواسپرمی انسدادی به علت انسداد مجاری منوی می باشد که ۴۰٪ موارد آزواسپرمی را شامل می شود. در این نوع آزواسپرمی هیچ گونه سلول اسپرماتوزوآیی در مایع انزال وجود ندارد. در آزواسپرمی غیرانسدادی نقص در فرآیند اسپرماتوزنز می باشد و ۶۰٪ موارد آزواسپرمی را شامل می شود. در این نوع آزواسپرمی تولید اسپرم کاهش یافته و یا اصلاً تولید نمی شود.
- ۲- الیگوسپرمی (Oligospermia): به تعداد کم اسپرم در انزال مرد گفته می شود. در این حالت تعداد اسپرم از ۲۰ میلیون در میلی لیتر کمتر است (تعداد نرمال ۱۲۰-۲۰ میلیون در میلی لیتر است).

- ۳- تراتوزواسپرمی (Teratozoospermia): کمتر از ۵۰٪ اسپرم ها حرکت جلو رونده طبیعی نشان می دهند.
- ۴- استنوزوسپرمی (Asthenozoospermia): کمتر از ۳۰٪ اسپرم ها دارای شکل طبیعی هستند.
- ۵- الیگواستنوتراتوزوسپرمی (Oligoasthenoteratozoospermia): شامل هر سه حالت الیگوزوسپرمی، استنوزوسپرمی و تراتوزوسپرمی می باشد.
- ۶- آسپرمی (Aspermia): انزال وجود ندارد [Ezeh, U. 2000].
- چهار مورد اول در نیمی از ناباروری زوج ها و در حدود ۹۰٪ ناباروری مردان وجود دارد. در ۱۰٪ باقی مانده از ناباروری مردان پارامترهای منی طبیعی گزارش شده است. لذا فرض بر این است نواقص غشایی و متابولیکی اسپرماتوزوئید علت ناباروری است. بر طبق معیارهای سازمان بهداشت جهانی (WHO) تعداد اسپرم کمتر از 20×10^6 در هر میلی لیتر (oligozoospermia)، تحرک کمتر از ۵۰٪ (asthenozoospermia) و مورفولوژی نرمال کمتر از ۳۰٪ (teratozoospermia) در مایع انزالی غیر نرمال است و می تواند باعث ناباروری فرد شود [Oatez R., et al. 1994; Huszar G, et al. 1992].

۱-۴ عوامل ایجاد کننده ناباروری در مردان

به طور کلی از علل ناباروری مردان می توان به عوامل ژنتیکی، آناتومیک، هورمونی، التهابی، ایمونولوژیک و آسیب های مکانیکی اشاره کرد.

عوامل بسیاری از جمله ناتوانی جنسی، انزال زودرس، مشکلات هورمونی، چاقی تا غیر طبیعی بودن سلول های جنسی، ابتلا به عفونت و حتی لزوم انجام یک جراحی که به ناباروری می انجامد، همگی هر چند کوچک می توانند به عوامل ژنتیکی که از اهمیت ویژه ای در ناباروری برخوردار است، مرتبط باشند [Hackstein, J., et al. 2000].

شایع ترین عوامل غیر ژنتیکی ناباروری مردان شامل هایپوگنادیسم، ناهنجاری های ساختمانی دستگاه تناسلی، عفونت های تناسلی، جراحی های اسکروتوم، واریکوسل، بیماری های مزمن، داروها و مواد شیمیایی می باشند. نقص های ژنی و آنومالی های کروموزومی می توانند موجب اختلال در فرآیند اسپرماتوزنز گردند. ناباروری و ارتباط آن با عوامل ژنی و کروموزومی بسیار پیچیده است. موتاسیون های ژنی، اختلالات کروموزومی، ناهنجاری های شبکه کروماتینی اسپرم و بلوغ آن از جمله عواملی هستند که می توانند تشکیل سلول های جنسی را دچار اختلال کرده و در نهایت باروری را مختل کنند. رخداد برخی پدیده ها

مانند تراکم زودرس ماده ژنتیکی در اسپرم وارد شده به اووسیت نیز از علل ناباروری شناخته شده اند. در نتیجه مهمترین اقدام در تشخیص علت بیماری، شناخت فاکتورهای ژنتیکی موثر بر ناباروری می باشد [Foresta, C., et al. 2002].

۱-۴-۱- ساختار ژنتیکی معیوب DNA اسپرم

در برخی مردان نابارور درصد زیادی از اسپرم‌ها دارای DNA شکسته یا آسیب دیده هستند و بنابراین قادر به ایجاد جنین نمی‌باشند.

فاکتورهای متعددی از جمله استرس های اکسیداتیو، نقص در بسته بندی کروماتین، افزایش نسبت هیستون به پروتامین، آلودگی ها، مواد زنبیوتیک مانند برخی داروها، دمای بالا و پرتوها می توانند منجر به آسیب DNA اسپرم و به دنبال آن ناباروری در مردان گردند [Shamsi, M. B., et al. 2011].

۱-۴-۲- ناهنجاری های کروموزومی

اکثر ناهنجاری های کروموزومی مربوط به کروموزوم های جنسی است. شیوع اختلالات کروموزومی در مردان نابارور نسبت به مردان بارور بالاتر است و این عدد با تعداد اسپرم نسبت معکوس دارد. مشکلات کروموزومی شامل دو گروه ناهنجاری های عددی و ناهنجاری های ساختاری می باشند که اکثر این مشکلات در کاریوتایپ فرد مشخص است [Shamsi, M. B., et al. 2011].

۱-۴-۲-۱- اختلالات عددی کروموزوم های جنسی

47, XXY

سندرم کلاین فلتر شایع ترین اختلال کروموزومی عددی و شایع ترین علت آزواسپرمی است. در ۱۱-۱۰ درصد موارد آزواسپرمی و ۵ درصد موارد الیگواسپرمی یافت می شود.

موارد موزاییک که دارای رده سلولی 46XY هستند ممکن است باعث ایجاد ایگواسپرمی شوند [Shamsi, M. B., et al. 2011]. از خصوصیات سندرم کلاسیک، صفات ثانویه زنانه، کوچک شدن بیضه ها، شفاف شدن لوله های منی ساز، هایپوگنادیسم و آزواسپرمی می باشد.

افرادی با موزاییسم 46,XY/47,XXY دارای حجم بیضه های غیرطبیعی هستند و معمولاً از بیوپسی بیضه آن ها هیچ اسپرمی جدا نمی شود [Foresta, C., et al. 1995].

در این سندرم به علت ناتوانی در ساخت مایع اسپرم، حجم بیضه ها کاهش یافته و نهایتاً آزواسپرمی ایجاد می شود. برخی از بیماران مبتلا به کلاین فلتر علاوه بر مشکلات اصلی این بیماری یعنی آزواسپرمی و کاهش حجم بیضه ها مشکلاتی از قبیل بروز صفات ثانویه جنسی و کاهش میزان آندروژن را هم دارند. تعداد اسپرم در این بیماری از شاخص های تشخیصی است [Ferlin, A., et al. 2005].

47XYY

دومین نوع آنیوپلویدی کروموزوم های جنسی می باشد. این سندرم نیز باعث ناباروری می شود و در اغلب موارد، مردان نابارور در این سندرم دچار اولیگو اسپرمی می باشند. در این افراد در پاکتین تشکیل YY مانع جفت شدن XY و در نتیجه منجر به اسپرماتوزن ناقص می شود [Vogt, P.H., 2004]. اکثر مطالعات انجام شده بر روی اسپرم های مردان 47,XYY به روش FISH، افزایش کروموزوم های غیر طبیعی اسپرم ها را نشان می دهد. گرچه شواهدی از افزایش احتمال آنیوپلویدی در فرزندان این مردان پیدا نشده است. اختلال کروموزومی 47XYY، اکثراً در مردان آزواسپرمیک با شیوع ۰/۰۹٪ دیده شده است [Mau- Holzmann, U. A., 2005].

موزاییک 45X/46XY

در این افراد بسته به میزان و جایگاه رده سلولی 45X، فرد می تواند نرمال تا نابارور و یا دارای فنوتیپ زنانه باشد.