دانشکده علوم پایه

پایان نامه کارشناسی ارشد

بررسی پلی مورفیسم کدون ۷۸ ژن کولین دهیدروژناز و ارتباط آن با ناباروری ایدیوپاتیک در مردان

از:

معصومه ابراهیمی

استاد راهنما:

دکتر حمیدرضا وزیری

اسفند ۱۳۹۱

بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده علوم پایه

گروه زیست شناسی

(گرایش ژنتیک)

بررسی پلی مورفیسم کدون ۷۸ ژن کولین دهیدروژناز و ارتباط آن با ناباروری ایدیوپاتیک در مردان

از:

معصومه ابراهیمی

استاد راهنما:

دکتر حمیدرضا وزیری

اساتید مشاور:

دکتر فرزام عجمیان

دکتر محمد هادی بهادری

اسفند ۱۳۹۱

تقدیم به آنان که مهر آسمانی شان آرام بخش آلام زمینی ام است:

به استوارترین تکیه گاهم، دستان پرمهر **پدرم**

به سبزترین نگاه زندگیم، چشمان امیدبخش **مادرم**

که هرچه آموختم، در مکتب عشق شما آموختم و هرچه بکوشم قطره ای از دریای بی کران مهربانیتان را سپاس نتوانم بگویم.

امروز هستی ام به امید شماست و فردا کلید باغ بهشتم رضای شماست.

ره آوردی گران سنگ تر از این ارزان نداشتم تا به خاک پایتان نثار کنم، باشد که حاصل تلاشم نسیم گونه غبار خستگیتان را بزداید.

بوسه بر دستان پرمهرتان

تقدیر و تشکر

سپاس خدای را که سخنوران، در ستودن او بمانند و شمارندگان، شمردن نعمت های او ندانند و کوشندگان، حق او را گزاردن نتوانند. و سلام و درود بر محمّد و خاندان پاک او، طاهران معصوم، هم آنان که وجودمان وامدار وجودشان است؛

از پدر و مادر عزیزم، این دو معلم بزرگوارم که همواره بر کوتاهی و درشتی من، قلم عفو کشیده و کریمانه از کنار غفلت هایم گذشته اند و در تمام عرصه های زندگی یار و یاوری بی چشم داشت برای من بوده اند؛

از اساتید با کمالات و شایسته؛ جناب آقای دکتر حمیدرضا وزیری که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی، از هیچ کمکی در این عرصه بر من دریغ ننمودند و زحمت راهنمایی این پایان نامه را بر عهده گرفتند؛

از اساتید ارجمند، جناب آقای دکتر فرزام عجمیان و جناب آقای دکتر محمد هادی بهادری، که زحمت مشاوره این پروژه را در حالی متقبل شدند که بدون مساعدت ایشان، این پروژه به نتیجه مطلوب نمی رسید؛

و از اساتید فرزانه و دلسوز؛ جناب آقای دکتر فرهاد مشایخی و جناب آقای مهندس مهدی رساکه زحمت داوری این پایان نامه را متقبل شدند؛ کمال تشکر و قدردانی را دارم.

و با تشکر خالصانه خدمت همه کسانی که به نوعی مرا در به انجام رساندن این مهم یاری نموده اند.

معصومه ابراهیمی

اسفند ۱۳۹۱

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

چکیده فارسی ..... ک
چکیده انگلیسی ..... ل

فصل اول: مقدمه

۱- مقدمه ۱
۱-۱- تعریف ناباروری ۱
۱-۲- ناباروری با منشأ ناشناخته ۱
۱-۳- ارزیابی ناباروری در مردان ۲
۱-۳-۱- تاریخچه‌ی پزشکی ۲
۱-۳-۲- آزمایشات فیزیکی ۳
۱-۳-۳- آنالیز مایع منی ۳
۱-۴- اسپرماتوژنز ۴
۱-۵- عوامل مؤثّر بر ناباروری در مردان ۶
۱-۵-۱ استروژن‌ها ۶
۱-۵-۲- عفونت ۶
۱-۵-۳- فلزات سنگین ۷
۱-۵-۴- سیگار کشیدن ۷
۱-۵-۵- تغذیه ۷
۱-۵-۶- دمای کیسه بیضه ۸
۱-۵-۷- پرتو ۸
۱-۵-۸- آنتی بادی‌های ضد اسپرم ۸
۱-۵-۹- داروها ۹
۱-۵-۱۰-گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) ۹
۱-۵-۱۱- نقص در آکروزوم ۱۰
۱-۵-۱۲- عوامل مادرزادی و اکتسابی ۱۰
۱-۶- ژنتیک مولکولی ناباروری مردان ۱۱
۱-۶-۱- سبب شناسی ژنتیکی ناباروری مردان ۱۱
۱-۶-۲- اختلالات کروموزومی ۱۲
۱-۶-۳- اختلالات تک ژنی ۱۲
۱-۶-۳-۱- ژن KAL1 ..... ۱۳

عنوان **صفحه**

۱-۶-۳-۲- ژن LEP و LEPR ۱۴
۱-۶-۳-۳- ژن AHC (NR0B1) ۱۴
۱-۶-۳-۴- ژن GNRHR ۱۴
۱-۶-۳-۵- ژن PROP1 ..... ۱۵
۱-۶-۳-۶- ژن HESX1 ..... ۱۵
۱-۶-۳-۷- ژن NR5A1 ..... ۱۵
۱-۶-۳-۸- ژن SRD5A2 ..... ۱۶
۱-۶-۳-۹- ژن SOX9 ..... ۱۶
۱-۶-۳-۱۰- ژن SRY ۱۶
۱-۶-۳-۱۱- ژن AR ۱۷
۱-۶-۳-۱۲- ژن CFTR ۱۷
۱-۶-۴- اختلالات چند فاکتوری ۱۷
۱-۶-۵- ریزحذفی‌های کروموزوم Y ۱۸
۱-۷- تأثیر متابولیسم ریز مغذّی‌ها بر ناباروری مردان ۱۹
۱-۷-۱- کولین ۱۹
۱-۷-۱-۱- فیزیولوژی کولین ۲۰
۱-۷-۱-۲- کمبود کولین ۲۰
۱-۷-۱-۲- نشانه‌های کمبود کولین ۲۱
۱-۷-۱-۳- گروه‌های در معرض خطر کمبود کولین و منابع غذایی حاوی کولین ۲۲
۱-۷-۱-۴- استفاده‌های دارویی از کولین ۲۲
۱-۸- خانواده دهیدروژناز ۲۲
۱-۸-۱- کولین دهیدروژناز(CHDH) ۲۳
۱-۸-۱-۲- جایگاه کروموزمی ژن کولین دهیدروژناز انسان ۲۳
۱-۸-۱-۳- متابولیسم کولین و عملکردکولین دهیدروژناز ۲۴
۱-۹- پلی مورفیسم های ژنتیکی و اهمیت آن ۲۵
۱-۹-۱ پلی‌مورفیسم CHDH +432G>T ۲۶
۱-۹-۱-۱- تأثیر CHDH +432G>T بر اسپرم ۲۷
۱-۸- هدف از تحقیق ۲۹

عنوان **صفحه**

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد و لوازم مورد نیاز ۳۰
۲-۱-۱- مواد و لوازم مورد نیاز جهت نمونه گیری ۳۰
۲-۱-۲- مواد و وسایل مصرفی جهت استخراج DNA از لوکوسیت های خون محیطی ۳۰
۲-۱-۳- مواد و لوازم مورد نیاز در الکتروفورز ژل آگارز جهت ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده ۳۱
۲-۱-۴- مواد و لوازم مورد نیاز جهت انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (Polymerase Chain Reaction=PCR) ۳۱
۲-۱-۵- مواد و لوازم مورد استفاده در تکنیک (Restriction Fragment Length Polymorphism = RFLP) ۳۲
۲-۱-۶- مواد و لوازم مورد نیاز در الکتروفورز محصولات PCR و محصولات RFLP به کمک ژل آگارز ۳۲
۲-۱-۷- آماده سازی بافرها و محلول‌ها ۳۳
الف) بافر TBE با غلظت 10X (10XTBE) ۳۳
ب) بافر TBE با غلظت 1X (1XTBE) ۳۳
۲-۲- وسایل و تجهیزات ۳۳
۲-۳- روش کار ۳۴
۲-۳-۱- نمونه‌گیری ۳۴
۲-۳-۲- استخراج DNA ژنومی از خون ۳۵
۲-۳-۳- ارزیابی کیفیت DNA ۳۶
۲-۳-۴- انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (Polymerase Chain Reaction=PCR) ۳۷
۲-۳-۴-۱- واکنش PCR ژن CHDH ۳۷
۲-۳-۴-۱-۱- آغازگرهای مورد استفاده ۳۸
۲-۳-۴-۱-۲- چرخه حرارتی PCR ژن CHDH ۴۰
۲-۳-۴-۱-۳- پروفایل حرارتی واکنش PCR ژن CHDH ۴۱
۲-۳-۵- الکتروفورز جهت بررسی کیفیت محصول PCR ۴۲
۲-۳-۶- استفاده از تکنیک RFLPجهت تشخیص پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی CHDH+432G>T RFLP ۴۲
۲-۳-۶-۱- انجام تکنیک RFLP ۴۲
۲-۴- آنالیز آماری ۴۳

فصل سوم: نتایج

۳- نتایج ۴۵
۳-۱- خصوصیات نمونه‌ها ۴۵
۳-۲- نتایج بررسی‌های مولکولی ۴۶
۳-۲-۱- نتایج بررسی کیفیت DNA استخراج شده توسط ژل آگارز ۰/۸٪ (الکتروفورز افقی) ۴۶

عنوان **صفحه**

۳-۲-۲- نتایج حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) ۴۷
۳-۲-۲-۱- نتایج حاصل از ژنوتایپینگ CHDH ۴۸
۳-۲-۲-۱-۱- نتایج آنالیز آماری CHDH ۵۰
۳-۲-۲-۱-۱-۱ بررسی فراوانی آللی CHDH ۵۰
۳-۲-۲-۱-۱-۲ بررسی فراوانی ژنوتیپی CHDH ۵۱

فصل چهارم: بحث

۴- بحث ۵۴
۴-۱- پیشنهادات ۵۸

منابع ۵۹
پیوست ۶۴

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول۱-۱- فهرست اصطلاحات ناهنجاری‌های مایع منی بر اساس طبقه بندی سازمان بهداشت جهانی (WHO) درسال ۲۰۱۰..... ۴
جدول ۱-۲- فهرست عوامل دخیل در ناباروری مردان ۱۰
جدول ۲-۱- مواد مصرفی در واکنش PCR ژن CHDH ۲۸
جدول ۲-۲- فهرست آغازگرهای مورد استفاده جهت PCR ژن CHDH..... ۳۹
جدول ۲-۳- چرخه حرارتی PCR ژن CHDH ۴۱
جدول۲-۴- مواد مصرفی در واکنش RFLP برای آنزیم..... ۴۳
جدول ۳-۱- خصوصیات نمونه‌ها ۴۵
جدول ۳-۲- نتایج آنالیز مایع منی بر اساس پارامتر های اسپرم در مردان نابارور..... ۴۶
جدول ۳-۳- نتایج مربوط به فراوانی آللی پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی G>T۴۳۲ و آزمون Odds-Ratio ژن CHDH ۵۱
جد.ل ۳-۴- نتایج مربوط به فراوانی ژنوتیپ های مشاهده شده ژن CHDH ۵۲

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱- مراحل اسپرماتوژنز ۵
شکل ۱-۲- اتیولوژی ژنتیک ناباروری مردان ۱۱
شکل ۱-۳- از چهار بخش هیپوفیز، هیپوتالاموس، غدد جنسی و دستگاه خروجی، همراه با تعدادی از ژن‌های شناخته شده ۱۳
شکل ۱-۴- کروموزوم Y و مناطق AZF به همراه ژن های هر ناحیه ۱۹
شکل ۱-۵- کولین و متابولیت‌های حاصل ازآن ۲۰
شکل ۱-۶- مکانیزم اثرات نقص کولین ۲۱
شکل ۱-۷- جایگاه ژنی کولین دهیدروزناز روی کروموزوم ۳ ..... ۲۴
شکل ۱-۸- این تصویر محصول سه ژن مهم در متابولیسم کولین را نشان می‌دهد ۲۵
شکل ۱- ۹- کولین و متابولیت‌های حاصل از آن، به همراه آنزیم‌ها و ژن‌های مربوطه ۲۸
شکل ۲-۱- Alignment آغازگرهای CHDH-F و CHDH-R با نرم افزار Oligo-7 ..... ۳۹
شکل ۲-۲- توالی قطعه تکثیر شده ژن CHDH ۴۰
شکل ۲-۳- ویژگی¬های آغازگرهای مورد استفاده، ازOligo7 ..... ۴۰
شکل ۲-۴- پروفایل حرارتی واکنش PCR ژن CHDH ۴۱
شکل ۲-۵- جایگاه شناسایی و برش آنزیم PauI (BssHII) ۴۲
شکل ۳-۱- تصویر مربوط به ژل آگارز ۰/۸٪ DNA ژنومی استخراج شده از لوکوسیت‌های خون محیطی ۴۷
شکل۳-۲- تصویر مربوط به ژل آگارز ۲٪ محصولات PCR جهت بررسی فعال یا غیرفعال بودن ژن CHDH ۴۸
شکل۳-۳- تصویر ژل آگارز۳٪ مربوط به هضم آنزیمی ژن CHDH ۴۹
شکل۳-۴- نمودار درصد فراوانی آلل‌های مشاهده شده در ژن CHDH در دو گروه سالم و بیمار ۵۰
شکل ۳-۵- نمودار درصد فراوانی ژنوتیپ‌های مشاهده شده ژن CHDH در دو گروه سالم و بیمار ۵۲

چکیده

بررسی پلی مورفیسم کدون ۷۸ ژن کولین دهیدروژناز و ارتباط آن با ناباروری ایدیوپاتیک در مردان

معصومه ابراهیمی

ناباروری به عنوان یک اختلال چند عاملی ناتوانی زوجین در تولید نسل، بعد از گذشت حداقل یک سال تلاش برای بارداری، بدون بهره گیری از روش های کنترل بارداری تعریف می شود. ناباروری با فاکتور مردانه، مسئول بیش از ۵۰٪ از مشکلات ناباروری می باشد. تقریبا" ۲۰٪ موارد ناباروری، منحصرا" در نتیجه فاکتور مرد است و در ۳۰-۴۰٪ موارد فاکتور زن و مرد هر دو در این زمینه نقش دارند. ناباروری با منشا ناشناخته، ناباروی ایدیوپاتیک نامیده می شود. ناباروری ایدیوپاتیک در مردان، به عنوان کاهش غیر قابل توصیف در کیفیت منی حداقل در یک یا چند پارامتر (تعداد، حرکت، مورفولوژی) در مردان با تست جسمانی و اندوکرینی طبیعی، تعریف می شود. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد، سوخت و ساز نابجای ریزمغذّی‌ها از جمله کولین، ممکن است یک نقش مؤثّر در ناباروری مردان داشته باشد.کولین یک عامل حیاتی در تنظیم ساختار و سیّالیت غشای اسپرم است. این ماده‌ی مغذّی نقش مهمی در بلوغ و ظرفیت غشای اسپرم دارد. کولین دهیدروژناز (CHDH) با اکسیداسیون کولین به بتائین در غشای داخلی میتوکندری نقش مهمی در متابولیسم کولین دارد. یکی از شایع‌ترین پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی این ژن سبب جایگزینی آرژنین به لوسین در اسیدآمینه ۷۸ آنزیم محصول این ژن می‌شود. به منظور بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم ژن *CHDH* با ناباروری ایدیوپاتیک مردان، DNA ی ژنومی از سلول‌های لوکوسیت خون ۵۰ فرد مبتلا به ناباروری و ۵۰ فرد بارور استخراج گردید و با استفاده از تکنیک PCR-RFLP ژنوتیپ این ژن تعیین شد. نتایج نشان داد که تفاوت معنی داری در توزیع آلل G و T در بین افراد سالم و بیمار وجود داشت ($P<0.05$). فراوانی ژنوتیپ‌های GG، GT و TT در افراد بیمار به ترتیب برابر با ۲۸، ۵۰ و ۲۲ ٪ بود و در افراد سالم فراوانی‌ها برابر با ۵۲، ۳۶ و ۱۲٪ بودند و تفاوت معنی‌داری در توزیع این فراوانی بین افراد بیمار و سالم وجود داشت ($P<0.05$). نتایج بدست آمده پیشنهاد می‌دهند که حضور آلل T خطر ابتلا به ناباروری را در مردان افزایش می‌دهد و اثر منفی دارد. گرچه مطالعات بیشتر در جمعیت‌های بزرگ‌تر برای تأیید این یافته مورد نیاز می‌باشد.

کلید واژه: ناباروری ایدیوپاتیک مردان، *CHDH*، کولین ، پلی‌مورفیسم ژنتیکی.

Abstract

The association of codon 78 (Arg/Leu) choline dehydrogenase gene polymorphism with idiopathic male infertility

Masoomeh Ebrahimi

Infertility, as a multifactorial disorders is an inability to conceive after at least one year of unprotected sexual intercourse. Male factor infertility accounts for more than 50% of all cases. It is also the sole reason for 20% and a contributory role for 30-40% of infertility cases. Male infertility with unknown causes is identified as cases of idiopathic male infertility. This is recognised by an unexplained reduction in semen quality in terms of sperm count, motility and morphology in men who are normal on physical examination and endocrine testing. There is some evidence that aberrant micronutrient metabolism such as choline may play a causative role in male infertility. Choline is a crucial agent in the regulation of sperm membrane structure and fluidity, and this nutrient also plays an important role in the maturation and fertilizing capacity of spermatozoa. Choline dehydrogenase (CHDH) contributes in choline metabolism by catalysing the oxidation of choline to betaine in the inner mitochondrial membrane. *CHDH* has a polymorphic locus within its coding region, causing an arginine to leucine substitution at codon 78. For this study, 50 infertile men and 50 healthy volunteers were recurited and a consent informed letter was obtained from all individuals. Genomic DNAs were extracted from peripheral blood leukocytes. Using RFLP-PCR technique, we investiggted the polymorphism of *CHDH* and its association with idiopathic infertility. There was a significant difference in allele G and T distribution between patients and healthy subjects ($P<0.05$). The observed frequencies of the *CHDH* GG, GT and TT genotypes were 28, 50 and 22 % respectively, in infertile subjects. In controls, the corresponding frequencies of the *CHDH* genotypes were 52, 36 and 12 %, respectively. A significant differences in genotype frequencies were found between patients and controls ($P<0.05$). The results suggest that *CHDH* T allele has a negative effect to male infertility. Nevertheless further investigations with larger populations are warranted to confirm the significance of our findings.

Keywords: Idiopathic male infertility, *CHDH*, choline, genetic polymorphism.

فصل اول

مقدمه

۱- مقدمه

ناباروری[1] یک مشکل سلامت تولید مثلی است که بر بسیاری از زوج‌ها در جامعه‌ی انسانی تأثیر می‌گذارد. حدود ۱۳-۱۵٪ زوجین از ناباروری رنج می‌برند. حدود ۲۰٪ از موارد ناباروری منحصراً به دلیل فاکتور مردانه است و در ۳۰-۴۰٪ موارد، فاکتور مردانه و زنانه باهم نقش داردند. بنابراین می‌توان گفت بیش از ۵۰٪ موارد ناباروری به دلیل فاکتورهای مردانه است. زوج‌های آسیب دیده از مشکلات بزرگ احساسی رنج می‌برند که می‌تواند منجر به بحران عمده‌ی اجتماعی، اقتصادی و روانی برای خانواده‌ها و جامعه شود. بسیاری از موارد ناباروری دارای مبنای مولکولی یا ژنتیکی هستند. دانش ژنتیک مولکولی ناباروری مردان به سرعت در حال توسعه است که می تواند کمک فوق‌العاده‌ای به رویکردهای تشخیصی و درمانی ناباروری کند (Hamadaa *et al.*, 2011; Seshagiri, 2001).

۱-۱- تعریف ناباروری

طبق تعریف سازمان بهداشت جهانی[2]ناباروری به عدم توانایی زوجین برای دستیابی به حاملگی پس از یک سال رابطه‌ی جنسی پی در پی و بدون اقدامات جلوگیری اطلاق می شود. ناباروری یا اولیه است، یعنی فرد برای اولین حاملگی دچار مشکل می‌باشد ویا ثانویه است، یعنی فرد دارای یک حاملگی موفّق در قبل بوده است ولی برای فرزندهای بعدی دچار مشکل در باروری شده است. ۶۷-۷۱٪ ناباروری از نوع اولیه و ۲۹-۳۳٪ از نوع ثانویه است (Seshagiri, 2001).

۱-۲- ناباروری با منشأ ناشناخته[3]

در ۳۷-۵۸٪ از موارد ناباروری در مردان هیچ دلیل قابل شناسایی دیده نمی شود. این گروه در جایگاه ناباروری با منشأ ناشناخته قرار می‌گیرند. ناباروری با منشأ ناشناخته، حالتی است که نقص در باروری به صورت[4] خودبه‌خودی[5] یا بر اثر دلایل ناشناخته و مبهم بروز

---

1. Infertility
2. WHO (World Health Organization)
3. Unknown
4. Primary infertility
5. Secondary infertility

می کند که به دو گروه ناباروری غیر قابل توصیف[6] و ناباروری ایدیوپاتیک[7] تقسیم می‌شود. خطی که این دو گروه را از هم جدا می-کند آنالیز مایع منی می‌باشد. در ناباروری غیر قابل توصیف در مردان، آنالیز مایع منی پارامترهای نرمال را نشان می دهد. در حالیکه در ناباروری ایدیوپاتیک پارامترهای مایع منی غیر عادی می‌باشند. ناباروری غیر قابل توصیف زیر مجموعه ای از ناباروری با منشأ ناشناخته است که ۶-۲۷٪ ناباروری در مردان را به خود اختصاص می‌دهد. درحالیکه ناباروری ایدیوپاتیک در مردان، به عنوان کاهش غیرقابل توصیف در کیفیت منی حداقل در یک یا چند پارامتر (تعداد، حرکت، مورفولوژی) در مردان با تست جسمانی و اندوکرینی طبیعی تعریف می‌شود که این مجموعه ۳۱٪ از مردان نابارور را به خود اختصاص می‌دهد (Hamadaa *et al.*, 2011).

۱-۳- ارزیابی ناباروری در مردان

بیشتر زوجین معمولاً پس از یک تا چهار سال تلاش برای فرزند دار شدن و عدم کسب نتیجه‌ی مورد نظر برای درمان اقدام می‌کنند. هدف از ارزیابی دقیق مردان نابارور؛ شناسایی علت ناباروری که لازمه‌ی جراحی و یا درمان مناسب است و شناسایی شیوه‌ی زندگی و همچنین شناسایی بیماری های مهمی که سلامت و یا زندگی فرد را تهدید می کند مانند سرطان پروستات و یا تومور های مغزی-نخاعی می‌باشد (Eliasson, 2010). برای ارزیابی اولیه ناباروری در مردان، تاریخچه ناباروری، آزمایشات فیزیکی و حداقل دوبار آنالیز مایع منی پس از ۱۲ ماه مقاربت منظّم و بدون بهره‌گیری از روش‌های جلوگیری از بارداری لازم می‌باشد (Hamadaa *et al.*, 2011).

۱-۳-۱- تاریخچه‌ی پزشکی

تاریخچه‌ی پزشکی و باروری روی شناسایی عوامل خطر و یا الگوهای رفتاری که می‌تواند روی باروری تأثیر بگذارد، متمرکز شده است. بیماری‌های سیستمیک، پرتو درمانی یا شیمی درمانی‌های قبلی، سوء مصرف الکل، قرار گرفتن غدد جنسی در معرض سم، مصرف استروئیدهای آنابولیک و داروهای مضر باید بررسی شوند. همچنین از بیماران باید در مورد ناباروری و سقط های خانوادگی،

---

[6]. Unexplain
[7]. Idiopathic

مدت زمان ناباروری و نیز باروری قبلی با همسر فعلی و یا قبلی، اختلال میل جنسی، اختلال نعوظ و انزال، حجم انزال، عمل‌های جرّاحی بیضه و واریکوسل، بیماری‌های مقاربتی و غیره پرسش شود (Krausz, 2011).

۱-۳-۲- آزمایشات فیزیکی

در معاینات فیزیکی به بررسی ویژگی‌های جنسی ثانویه مانند رویش و توزیع موهای ضخیم، تناسب بدنی و صدای مردانه پرداخته می-شود. همچنین باید توجه ویژه‌ای به اندام تناسلی مثل مکان آلت تناسلی، حجم و انسجام بیضه‌ها، اپیدیدیم، کیسه‌ی بیضه و لمس فیزیکی آنها به منظور تشخیص وجود کیست شود (Krausz, 2011).

۱-۳-۳- آنالیز مایع منی

آنالیز مایع منی معمولاً یکی از اولین تست هایی است که به تشخیص اولیه ناباروری در مردان کمک می‌کند. این آزمایش اطلاعاتی راجع به اسپرم و مایع اسپرمی می‌دهد. همچنین اطلاعات مختصری راجع به عملکرد های ترشحی پروستات، سمینال وزیکول و اپیدیدیم در اختیار قرار می‌دهد (Eliasson, 2010). به‌طور کلی برای تشخیص درست، دست کم دوبار و در صورت نیاز سه بار آنالیز مایع منی لازم است. در این ارزیابی‌ها تراکم اسپرم، تعداد کل، تحرک و مورفولوژی آن و پارامترهای مایع منی مانند حجم، pH، و غلظت آن مورد سنجش قرار می‌گیرد (Krausz, 2011). فهرست اصطلاحات ناهنجاری های مایع منی در جدول (۱-۱) آورده شده است.

جدول (۱-۱) : فهرست اصطلاحات ناهنجاری‌های مایع منی بر اساس طبقه بندی سازمان بهداشت جهانی (WHO) درسال ۲۰۱۰. برگرفته از (Krausz, 2011).

Oligozoospermia	Sperm concentration $<15\times10^6$/ml; total sperm number $<39\times10^6$/ml
Asthenozoospermia	<32% progressively motile spermatozoa
Teratozoospermia	<4% morphologically normal spermatozoa
Oligo-asteno-teratozoospermia	Disturbance of all three parameters
Azoospermia	No spermatozoa in the ejaculate
Cryptozoospermia	Spermatozoa absent from fresh preparation but observed in a centrifuged pellet
Aspermia	No ejaculate
Leucospermia (leucocytospermia)	$>1\times10^6$ ml leucocytes in the ejaculate

۱-٤- اسپرماتوژنز[8]

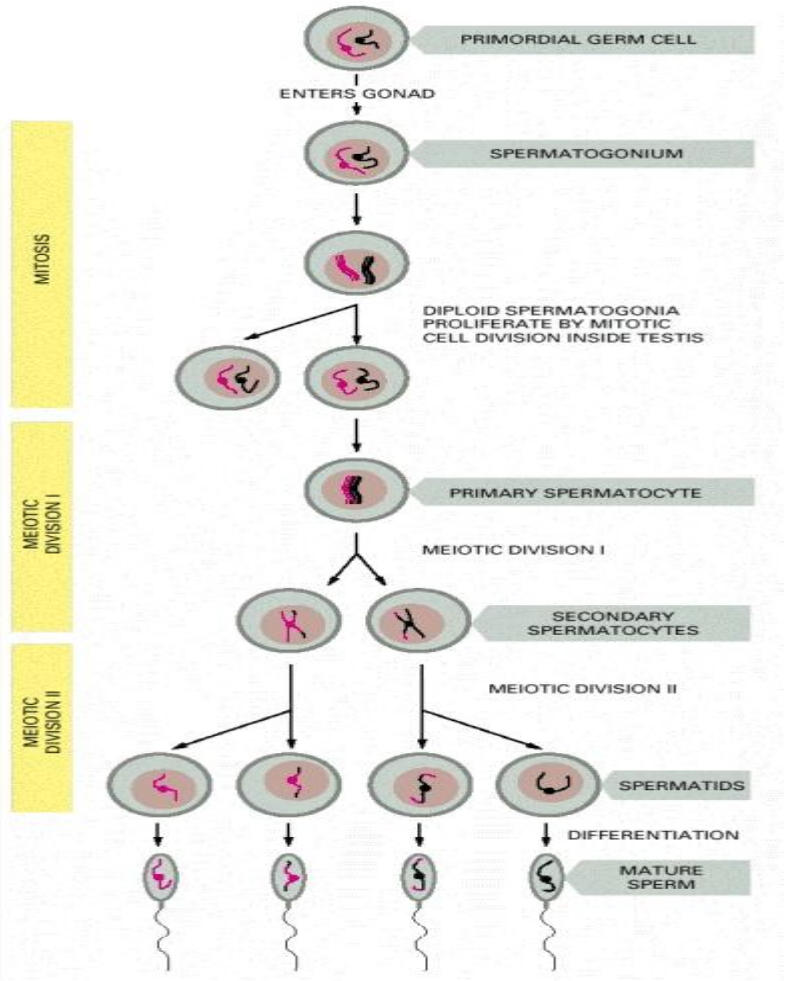
اسپرماتوژنز فرایندی پیچیده است که از لحاظ آناتومی در بیضه ها و درون لوله‌های اسپرم ساز اتّفاق می‌افتد. اولین مراحل در حاشیه لوله‌های اسپرم ساز اتفاق می‌افتد و به تدریج که سلول ها بالغ‌تر می‌شوند به سمت منفذ مرکزی لوله‌ی اسپرم ساز حرکت می‌کنند. اولین سلول‌های زاینده[9] (اسپرماتوگونی) پیش سازهای میوز را فراهم می‌کنند و از سه جمعیت تشکیل شده‌اند: سلول‌های بنیادی[10]، سلول-های میتوزی که از لحاظ تقسیم فعّال‌تر هستند و سلول‌های تمایز نیافته. اسپرماتوگونی بالغ DNA خود را تکثیر می‌کند و به سلول‌های میوزی که اسپرماتوسیت نامیده می‌شود، تمایز می‌یابد. مرحله‌ی اوّل میوز یعنی پروفاز میوزی یک دوره‌ی بحرانی است که نوترکیبی‌های

[8]. Spermatogenesis
[9]. Germ cell
[10]. Stem cell

ژنتیکی در آن اتّفاق می‌افتد. متعاقباً اسپرماتوسیت‌ها تحت دو تقسیم پی‌درپی قرار می‌گیرند که اسپرماتوسیت ثانویه و سپس سلول‌های هاپلوئیدی که اسپرماتیدکروی نامیده می‌شوند را به وجود می آورند. پس از آن طی فرایندی که اسپرمیوژنز نامیده می‌شود، اسپرماتید کروی (اسپرماتید اوّلیه) به اسپرماتید کشیده وسپس به اسپرماتوزوا تمایز می‌یابد. در طول اسپرمیوژنز، ژنوم به جای هیستون‌ها با پروتامین[11]ها بسته بندی می‌شود که برای کاهش حجم اسپرماتید کروی به اسپرماتوزوای کشیده لازم است. بیضه علاوه بر سلول‌های زاینده حاوی تعدادی از انواع سلول‌های سوماتیک مثل سلول های سرتولی و سلول های لیدیگ هستند که از اسپرماتوژنز حمایت می-کنند (Elliott and Cooke, 1997).

واضح است که در چنین مجموعه‌ای از فرایندهای پیچیده بسیاری از عوامل ژنتیکی و غیرژنتیکی می‌توانند تولید اسپرم را مختل کنند. از آنجاییکه این شکل از تقسیم منحصر به گامتوژنز است، می‌توان انتظار داشت که جمعیتی از پروتئین‌ها وبنابراین ژن‌های کدکننده‌ی آنها، مخصوصاً آن جنبه‌هایی که متمایز از میتوز هستند، منحصراً مربوط به گامتوژنز هستند. (Elliott and Cooke, 1997).

[11]. Protamine



شکل (۱-۱) : مراحل اسپرماتوژنز. برگرفته (Alberts, 2002).

۱-۵- عوامل مؤثر بر ناباروری در مردان

طیف وسیعی از عوامل مؤثّر بر ناباروری مردان وجود دارد که به تعدادی از آن‌ها اشاره خواهیم کرد.

۱-۵-۱ استروژن‌ها

استروژن و مشتقات آن و آنالوگ‌های مصنوعی (diethylstilbestrol) به طور گسترده در صنایع دام، مرغ و محصولات لبنی استفاده می‌شود. تصوّر می‌شود که افزایش قرار گرفتن در معرض استروژن نه‌تنها مسئول آسیب قبل از تولّد است بلکه ممکن است، بعد