

بررسی پلی مورفیسم *rs1893316* ژن *Catsper1* در مردان مبتلا به بیماری آستنوزواسپرمی مراجعه کننده به مراکز درمان ناباروری آذربایجان شرقی

سیمین رحیم پور قوشچی، سیدعلی رحمانی*، مسعودملکی

گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، تبریز، ایران

چکیده

سابقه و هدف: آستنوزواسپرمیا، به عنوان کم تحرکی یا عدم تحرک اسپرم شناخته می شود که یکی از شایع ترین علت ناباروری در مردان می باشد. هدف از این تحقیق، آشکار ساختن ارتباط پلی مورفیسم *rs1893316* ژن *Catsper1* با بیماری آستنوزواسپرمیا در مردان می باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه مولکولی متعاقب توجیه و اخذ رضایت کتبی از ۵۰ گروه بیمار و ۵۰ گروه کنترل ۲ میلی لیتر خون از آنان دریافت گردیده و استخراج DNA به روش نمک اشباع و تعیین پلی مورفیسم به روش sequencing انجام شد.

یافته ها: در مطالعه پلی مورفیسم *rs1893316 C>T* فراوانی ژنوتیپ CC و فراوانی ژنوتیپ TT در گروه کنترل در مقایسه با گروه بیمار به طور قابل توجهی بالاتر بود ($p < 0.05$). در فراوانی ژنوتیپ هتروزیگوت CT تفاوت معنی داری بین بیماران و افراد نرمال مشاهده نشد ($p < 0.05$).

بحث: کانال CATSPER1 از نظر عملکرد فیزیولوژیکی، تنها محدود به مسیر حرکت در اسپرم می باشد که به طبع آن با ترشح یون کلسیم و ایجاد عدم تعادل در غلظت یونی باعث می شود که حرکت اسپرم از نظر قدرت و سرعت افزایش یابد.

نتیجه گیری: پلی مورفیسم *rs1893316* ژن *Catsper1* با بیماری آستنوزواسپرمیا ارتباط معنی داری دارد. نتیجه به دست آمده ممکن است با تغییر خزانه ژنتیکی جمعیت مورد بررسی و یا تغییر معنی دار اندازه جمعیت، تغییر کند.

واژه های کلیدی: ناباروری مردان، آستنوزواسپرمیا، ژن *CATSPER1*، پلی مورفیسم.

مقدمه:

یک مشکل خصوصی و اجتماعی مطرح گشته که بار اجتماعی و روانی فراوانی به همراه دارد. امروزه با وجود معرفی تکنولوژی کمک باروری حتی در بهترین مراکز، پس از انجام روش های درمانی شانس بارداری منتهی به تولد زنده به طور معمولاً کمتر از ۴۵ درصد می باشد (۱۴). بررسی آمار جهانی طی سال های اخیر بیانگر افزایش میزان ناباروری می باشد که در مطالعه های انجام شده، کاهش اسپرم مردان را یکی از عوامل مهم برشمرده اند. کشور ایران نیز از این رابطه مستثنی نبوده به طوری که پژوهش های انجام شده توسط پژوهشگران مرکز فوق تخصصی ناباروری ابن سینا نشان می دهد که میزان مراجعه مردان به مراکز ناباروری افزایش یافته است که

ناباروری ۱ در یک زوج، عبارت از عدم توانایی لقاح علیرغم یکسال آمیزش مداوم بدون استفاده از روش های پیش گیری از بارداری می باشد. ناباروری مردان همواره به عنوان

نویسنده مسئول:

گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، تبریز، ایران

پست الکترونیکی: Rahmaniseyedali@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۲۹/۸/۱۳۹۵

تاریخ پذیرش: ۷/۱۲/۱۳۹۵

قادر به نفوذ در آن نخواهد بود زیرا حرکت شلاقی آن ناشی از کانال *Catsper1* است که در غیاب آن قدرت نفوذ اسپرم کاهش می یابد (۱۵). تحقیق های دموت و همکاران در زمینه عملکرد ژن *Catsper1* در باروری، نشان داده است که در همه پستاندارانی که تا به حال به صورت عملی آزمایش شده اند، این ژن نقش اساسی دارد. به هر حال عملکرد آن می تواند از گونه ای به گونه ای دیگر تغییر کند. هم چنین این ژن در خزندگان و دوزیستان نیز به صورت فعالی نقش دارد ولی در پرندگان، ماهی ها، حشرات، کرم ها و گیاهان مشاهده نشده است. زیست شناسانی که سیر تکاملی در حیوانات را بررسی می کنند پیشنهاد کردند که در طول فرایند انتخاب طبیعی گونه-هایی که دارای تخمک با دیواره ضخیم تر هستند (مانند موش و انسان) کاربرد ژن *Catsper1* در جنس نر را حفظ کرده اند در حالی که گونه هایی که دارای تخمک با دیواره نازک هستند مانند پرندگان و ماهی ها عملکرد این ژن را از دست دادند (۱۳، ۹). تحقیق های فنگ پنگ شو و همکاران نشان می دهد پلی مورفیسم *rs1893316* ژن *Catsper1* با بیماری آستنوزواسپرمیا ارتباط معنی داری دارد و شاید بتوان آن را به عنوان مارکر مستعد کننده به بیماری آستنوزواسپرمیا در نظر گرفت (۱۷). هدف از این تحقیق، بررسی پلی مورفیسم *rs1893316* ژن *CATSPER1* در بیماران مبتلا به آستنوزواسپرمیا و گروه کنترل در افراد مراجعه کننده به مرکز درمان ناباروری آذربایجان (جهاد دانشگاهی تبریز) بود.

مواد و روش ها :

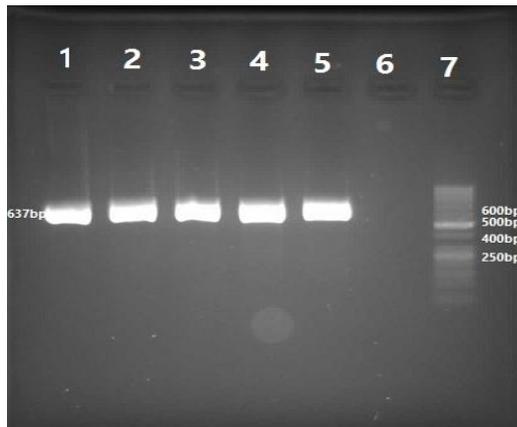
در این مطالعه ۵۰ نفر بیمار مبتلا به آستنوزواسپرمی و ۵۰ نفر کنترل مطالعه شدند. این بیماران کسانی بودند که در فاصله زمانی مهرداد ۱۳۹۴ تا اسفند ۱۳۹۴ به مرکز درمان ناباروری جهاد دانشگاهی آذربایجان شرقی مراجعه کرده بودند. پس از رویت نتیجه آنالیز نمونه سمن بیماران در آزمایشگاه جنین شناسی، افرادی که مجموع حرکت آهسته و سریع اسپرماتوزوئید آنها طبق WHO پایین تر از ۳۲ درصد بود وارد این مطالعه شدند. بعد از کسب رضایت نامه از این افراد، مقدار ۲ سی سی خون از ورید براکیال

نشان دهنده نگرانی ها در زمینه باروری می باشد. ناباروری یک مشکل چند علتی است و براساس الگوی ناباروری در دنیا ۴۰ درصد ناباروری ها مربوط به زنان، ۴۰ درصد مربوط به مردان، ۱۵ درصد عامل مشترک، ۵ درصد عامل ناشناخته است که آمار ناباروری در ایران نیز کمابیش از این آمار جهانی پیروی می کند (۱). با پیشرفت علم ژنتیک در عصر حاضر و کاربردهای آن در برخی بیماری ها به-خصوص در درمان ناباروری، جای امیدی را برای حل مشکل ناباروری به خصوص در کشورمان باز نموده است. در این راستا تحقیق های آزمایشگاهی قابل توجهی صورت پذیرفته که بیش تر آن ها بر روی علل ناباروری در زنان پرداخته اند و تحقیق های اندکی در زمینه ناباروری مردان با منشاء ژنتیکی که در اسپرم های فاقد تحرک که در اصطلاح به عنوان بیماری آستنوزواسپرمیا ۲ شناخته می-شود، صورت پذیرفته است (۸، ۱۶، ۲۱). آستنوزواسپرمیا یکی از شایع ترین و معمول ترین علت ناباروری در مردان می باشد که به عنوان کم تحرکی یا عدم تحرک اسپرم شناخته می شود. ژن مربوط به این بیماری را می توان

Catsper1 دانست که در تنظیم کانال Ca^{++} حائز اهمیت می باشد (۱۷). ژن *Catsper1* در موقعیت کروموزومی 11q12.1 قرار دارد و طول توالی ژن ۹۷۶۷bp می باشد. این ژن واجد ۱۲ اگزون و ۱۱ اینترون می باشد که پروتئینی به وزن 90091 Da و به تعداد ۷۸۰ اسید آمینه را کد می کند. در مطالعه های دموت ۳ و همکاران (۱۹۹۲) به این نتیجه رسیدند که در بخش اصلی دم، کانال های یونی *Catsper1* موجود می باشد که در ایجاد حرکت های قوی نامتقارن که در اصطلاح هیپرموتیلیتی ۴ گفته می شود، نقش ضروری دارد و باعث می شود که اسپرم توانایی پیشرفت در مایع لوله فالوپ را داشته باشد. به عبارت دیگر، اسپرم هایی که فاقد *Catsper1* می باشند دارای حرکت شلاقی نبوده و قادر به پیشرفت در مسافت های طولانی برای ورود به سمت تخمک نمی باشند. بنابراین اگر بخواهیم از نظر ساختاری اسپرم را مورد بررسی قرار دهیم صرف نظر از سالم بودن همه بخش های آن مانند آنزیم های قدامی، میتوکندری ها، اگر کانال *Catsper1* فعال نباشد اسپرم نمی تواند خود را به تخمک رسانده و یا اگر برساند

- 2 Asthenozoospermia
- 3 . Demott
- 4 Hypermotility

محصول PCR در ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز گردید و به طور مستقیم درون دستگاه UVITEC قرار داده شد و با تاباندن اشعه ماورا بنفش از صفحه مانیتور دستگاه، وضعیت قطعه‌های مهاجرت کرده روی ژل، بررسی شد. بعد از الکتروفورز در تمام نمونه‌ها تک باند مشاهده شد و در هیچ کدام از آن‌ها آلودگی RNA (وجود نوار اضافی در زیر نوار اصلی) و باند در NO DNA مشاهده نشد. نتایج به دست آمده نشان دهنده کیفیت بسیار خوب DNA استخراج شده است. باند ۶۳۷bp محصول تکثیر به وسیله پرایمرهای مورد نظر مشاهده گردید (شکل ۱).



شکل ۱: نتیجه ژل الکتروفورز محصولات PCR برای پلی مورفیسم *Catsper1* ژن rs1893316

بعد از مشاهده باند DNA و بررسی باندها از نظر وجود و عدم وجود اسمیر و هم‌چنین بررسی وجود و عدم وجود آلودگی در نمونه NO DNA، نمونه‌ها برای تعیین توالی به شرکت تکاپوزیست فرستاده شد. نتایج تعیین توالی گروه بیمار و گروه کنترل، با استفاده از نرم افزار chromas، از نظر وجود و عدم وجود پلی مورفیسم بررسی شدند (شکل‌های ۳، ۲، ۴). فراوانی‌های آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها در هر دو گروه بیمار و کنترل مورد بررسی قرار گرفت و برای مقایسه فراوانی آللی و ژنوتیپی بین گروه بیماران و گروه افراد کنترل از آزمون کای اسکوئر استفاده با استفاده شد. بررسی‌های آماری و تجزیه و تحلیل X^2 با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. اختلاف فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی برای پلی مورفیسم *Catsper1* ژن rs1893316 بین گروه بیمار و گروه کنترل به وسیله آزمون کای اسکوئر به همراه نسبت احتمال‌های (Odds Ratio: OR) مورد ارزیابی قرار گرفت.

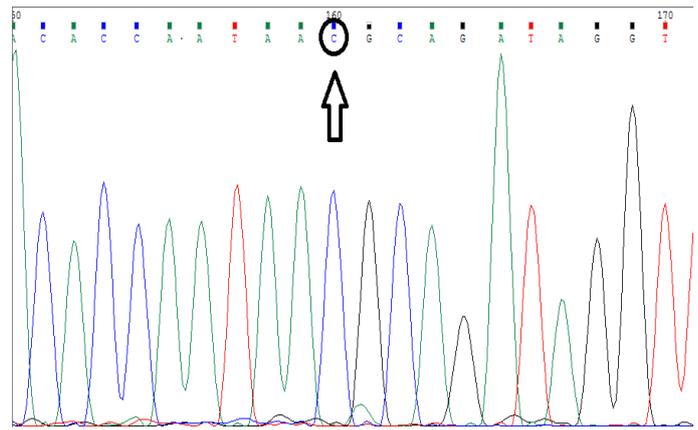
گرفته شده و در لوله EDTA دار ریخته شد. دهانه لوله را بسته و حدود دو دقیقه لوله را به آرامی سروته کرده تا خون به خوبی با ماده ضد انعقاد مخلوط شده و از لخته شدن خون جلوگیری به عمل آید. از افراد تحت مطالعه سوال‌هایی در مورد سن، شغل، بیماری خاص و داروی خاص و عمل جراحی پرسیده شد. از نمونه‌های خونی تهیه شده به روش نمک اشباع، استخراج DNA انجام گرفت. سپس غلظت و کیفیت DNA های استخراجی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری و ژل آگارز ۲٪ تعیین گردید. در مرحله بعدی با استفاده از واکنش‌های زنجیره-ای پلی‌مرز (PCR) قطعه دارای جایگاه SNP rs1893316 مربوط به آگزون ۱ تکثیر یافت. پرایمرهای مورد استفاده در این تحقیق با استفاده از نرم افزار Oligo 7 طراحی و توسط Primer-Blast NCBI آنالیز گردید که در جدول ۱ در نظر نشان داده می‌شود.

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده و دمای اتصال

نام ژن	توالی پرایمرها	دمای اتصال
Catsper1 Forward primer (5'to 3')	ACGAGAATAGTCAGGCCT	58
Catsper1 Reverser primer (5' to 3')	GCACGCCAGAGGAATAGT	58

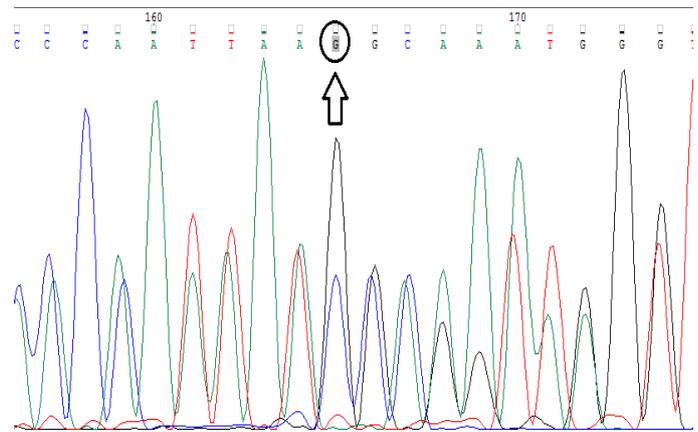
واکنش PCR، در حجم نهایی ۲۵µl شامل MasterMix (۱۲/۵µl)، H₂O (۹/۵µl)، یک میکرولیتر نمونه DNA استخراج شده، یک میکرولیتر پرایمر Forward، یک میکرولیتر پرایمر reverse بود. PCR تحت چنین شرایط دمایی انجام شد. یک مرحله ذوب (Denaturation) ابتدایی ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۵ دقیقه و در ادامه ۲۰ چرخه شامل شرایط دمایی ۹۴ برای مدت ۳۰ ثانیه، دمای اتصال (Annealing) که از دمای ۵۸ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۳۰ ثانیه شروع شد و در هر سیکل ۵ درجه کاهش می‌یافت و دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۳۰ ثانیه به منظور گسترش (Extension) انجام شد. این مرحله با ۱۰ سیکل شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۳۰ ثانیه ۵۵ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه به مدت ۳۰ ثانیه دنبال شد و در نهایت یک مرحله تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۵ دقیقه انجام شد.

نمونه بیماران در مقایسه با نمونه کنترل، به طور قابل توجهی بالاتر بود ($p < 0.05$). در فراوانی ژنوتیپ هتروزیگوت CT تفاوت معنی داری بین بیماران و افراد نرمال مشاهده نشد ($p < 0.05$). فراوانی ژنوتیپ TT در گروه کنترل در مقایسه با گروه بیمار به طور قابل توجهی بالاتر بود ($p < 0.05$).
با توجه به نتایج جدول آلل‌ها، آلل C، در مقایسه بین دو گروه کنترل و بیمار، بیش‌تر در گروه بیمار مشاهده شده است و آلل T، در مقایسه بین دو گروه کنترل و گروه بیمار، بیش‌تر در گروه کنترل مشاهده شده است.



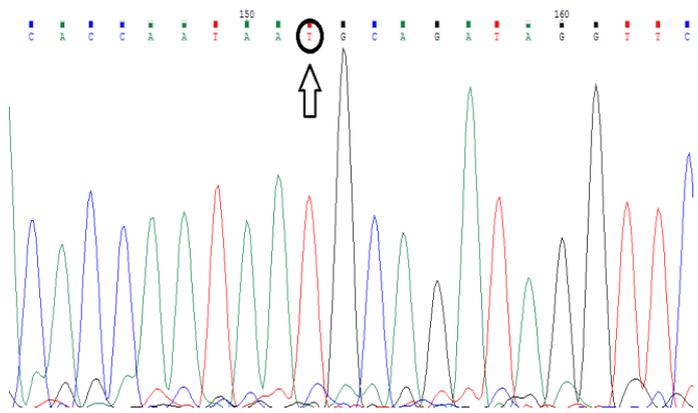
شکل ۲: تعیین توالی ژنوتیپ CC پلی مورفیسم rs1893316 ژن

Forward پرایمر با CATSPER1



شکل ۳: تعیین توالی ژنوتیپ CT پلی مورفیسم rs1893316 ژن

Forward پرایمر با CATSPER1



شکل ۴: تعیین توالی ژنوتیپ TT پلی مورفیسم rs1893316 ژن

Forward پرایمر با CATSPER1

نتایج

فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی پلی مورفیسم rs1893316 در ژن *Catsper1* در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است. پس از انجام تکنیک‌های آزمایشگاهی و محاسبه آماری، نتایج بدین صورت به دست آمد: در مطالعه پلی-مورفیسم $C > T$ rs1893316 فراوانی ژنوتیپ CC در ۱۰.۲

جدول ۱: بررسی ژنوتیپ C در گروه بیمار و گروه کنترل

Genotype	Control	Astheno	P value	OR(95%CI)
CC	29(0.58)	37(0.74)	0.017	2.061(1.087-3.920)
CT	16(0.32)	12(0.24)	0.208	0.67(0.343-1.308)
TT	5(0.1)	1(0.02)	0.017	0.184(0.027-0.928)

جدول ۲: بررسی آلل C در گروه بیمار و گروه کنترل

Allele	CONTROL	Astheno	P value	OR(95%CI)
C	74(0.74)	86(0.86)	0.034	2.158(0.995-4.725)
T	26(0.26)	14(0.14)	0.034	0.463(0.212-1.005)

بحث

ناباروری، ناتوانی یک زوج در باردارشدن پس از یک سال رابطه جنسی محافظت نشده می‌باشد. ناباروری مردان همواره به عنوان یک مشکل خصوصی و اجتماعی مطرح گشته که بار اجتماعی و روانی فراوانی به همراه دارد. امروزه با وجود معرفی تکنولوژی کمک باروری حتی در بهترین مراکز، پس از انجام روش‌های درمانی شانس به وجود آمدن تولد زنده به طور معمول کم‌تر از ۴۵ درصد می‌باشد (۱۴). حدود ۱۵ درصد از زوجها ظرف مدت یک سال به بارداری دست نمی‌یابند و در نهایت کم‌تر از ۵ درصد بچه‌دار نمی‌شوند. در ۱۰ تا ۱۵ درصد از زوجها با استفاده از کار تشخیصی معمول هیچ علتی از ناباروری یافت نمی‌شود (۱۱). فاکتورهای مردانه مسئول ۵۰٪ از موارد ناباروری است. ۳۰ تا ۴۰ درصد از موارد علت ناباروری مردان مشخص نیست (۱۴). لازم به ذکر است که

۱. مطالعه دکتر ایرج امیری و همکاران که بر روی تأثیر کارنیتین بر پارامترهای اسپرم مردان مبتلا به آستنوزواسپریمیا با علت ناشناخته انجام گرفت، به این نتیجه رسیدند که درمان با کارنیتین به طور معنی-داری، موجب افزایش تعداد کل اسپرم‌ها و بهبود مورفولوژی آن‌ها و نیز افزایش معنی‌دار تحرک کلی و حرکت پیش‌رونده سریع اسپرم‌های افراد تحت درمان می‌گردد (۲).

۲. مطالعه دکتر علیرضا وحیدی و همکاران در مرکز تحقیقاتی و درمانی ناباروری یزد که در سال ۱۳۸۹ اثر دوزهای مختلف آدنوزین بر پارامتر تحرک اسپرم مردان نابارور را بررسی کردند، به این نتیجه رسیدند که در ارزیابی اولیه پارامترهای اسپرم به جز تحرک آهسته، تفاوت معنی‌داری داشتند. آدنوزین در گروه بارور سبب افزایش تعداد اسپرم در دور ۵ میلی-گرم و افزایش تحرک سریع و کاهش اسپرم‌های بی-تحرک در دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم و نیز کاهش درصد اسپرم با تحرک آهسته شد. در گروه نابارور، این افزایش دوز، تنها سبب بهبود تعداد اسپرم در دوز ۵ نسبت به ۲ میلی‌گرم گردید و بر تحرک آهسته بی‌تأثیر بود. در تحرک سریع فقط دوز ۵ مؤثر بود و دوز ۱۰ میلی‌گرم اثری نداشت. هم‌چنین در دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم کاهش اسپرم‌های بی‌تحرک معنی‌دار بود. سرانجام به این نتیجه رسیدند که افزودن ۵ میلی‌گرم آدنوزین به محیط کشت اسپرم می‌تواند سبب افزایش تحرک اسپرم پیش‌رونده مردان نابارور شود (۲۲).

بیش از ۳۰۰۰ زن وجود دارد که نقش خاص در باروری مردان دارد (۲۰). یکی از ژن‌هایی که اختلال جزئی در آن موجب ناباروری در مردان می‌شود *CATSPER1* می‌باشد. در مطالعه دموت و همکاران (۱۹۹۲) به این نتیجه رسیدند که در بخش اصلی دم، کانال‌های یونی *CATSPER* موجود می‌باشد که در ایجاد حرکت‌های قوی نامتقارن که در اصطلاح هیپرموتیلیتی گفته می‌شود، نقش ضروری دارد و باعث می‌شود که اسپرم توانایی پیشرفت در مایع لوله فالوپ را داشته باشد. به عبارت دیگر، اسپرم‌هایی که فاقد *CATSPER* می‌باشند دارای حرکت شلاقی نبوده و قادر به پیشرفت در مسافت‌های طولانی برای ورود به دیواره تخمک نمی‌باشند. بنابراین

باید بین ناباروری با علت غیر قابل توضیح و ناباروری مردان ایدیوپاتیک تفاوت قائل شد. خط تقسیم بین آن‌ها تجزیه و تحلیل مایع منی است که در گروه‌های غیر قابل توضیح طبیعی بوده و در ناباروری ایدیوپاتیک غیر طبیعی است (۵). مهم‌ترین علل ناباروری در مردان عبارتند از: کاهش تعداد اسپرم (اولیگو اسپرمیا)، کاهش حرکت اسپرم (آستنوزواسپریمیا). فرم‌های بد شکل اسپرماتوزوآ از نظر ظاهری (تراتواسپریمیا)، گاهی سه مورد قبل با هم بوده که اولیگو استنو تراتو اسپرمیا نامیده می‌شود، عدم مشاهده اسپرم (آزوسپریمیا) (۱۴). یکی از عمده‌ترین و شایع‌ترین دلیل ناباروری، تحرک کم اسپرم در مردان می‌باشد که به این بیماری در اصطلاح آستنوزواسپریمیا گفته می‌شود. عوامل محیطی و ژنتیکی، در بروز این بیماری دخیل می‌باشند. از عوامل محیطی مؤثر می‌توان به واریکوسل، عفونت منی، مشکلات بیضه، آنتی‌بادی‌های ضد اسپرم، رژیم غذایی نامناسب، استعمال سیگار، مصرف بیش از حد الکل و مواد مخدر دیگر (مانند کوکائین و ماری‌جوانا)، قرار گرفتن در معرض عوامل سمی مانند حشره‌کش‌ها، سن (در مردان بالای ۴۵ سال حرکت اسپرم کاهش می‌یابد)، شیمی درمانی و پرتو درمانی، تب بالا، تماس طولانی با حرارت در خودرو، سونا یا وان گرم اشاره کرد. با این حال عوامل ژنتیکی اندکی در ارتباط با بروز بیماری آستنوزواسپریمیا مورد بررسی قرار گرفته‌اند. از روش‌های روتین درمان بیماری آستنوزواسپریمیا می‌توان به IUI و IVF و ICSI اشاره کرد (۷).

از آنجایی که ناباروری به‌عنوان یک بحران روانی، استرس زیادی را بر زوج‌های نابارور وارد نموده و به طرق گوناگون سلامت روانی آنها را تهدید می‌نماید (۳). نرخ بالای ناباروری در ایران به لحاظ جنبه‌های اجتماعی-فرهنگی آن، به خصوص نزد زنان، اهمیت ویژه‌ای را جهت مطالعه پدیده ناباروری با تکیه بر جنبه‌های روانی اجتماعی مطرح می‌نماید و هم‌چنین نظر به این‌که ارتباط برخی از عوامل ژنتیکی و بروز بیماری آستنوزواسپریمیا به اثبات رسیده است، لذا بررسی در خصوص عوامل ژنتیکی دخیل در بروز آستنوزواسپریمیا، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. مطالعه‌های زیادی تأثیر عوامل مختلفی را بر روی پارامترهای اسپرم مردان مبتلا به آستنوزواسپریمیا انجام دادند که می‌توان به مطالعه‌های زیر اشاره کرد.

اگر بخواهیم از نظر ساختاری اسپرم را مورد بررسی قرار دهیم صرف نظر از سالم بودن همه بخش های آن مانند آنزیم های قدامی، میتوکندری ها و غیره اگر کانال CATSPER فعال نباشد اسپرم نمی تواند خود را به تخمک رسانده و یا اگر برساند قادر به نفوذ در آن نخواهد بود زیرا حرکت شلاقی آن ناشی از کانال CATSPER است که در غیاب آن قدرت نفوذ اسپرم کاهش می یابد (۱۵). همه CATSPER ها کانال سدیمی با ولتاژ TM_{Ca} (Na v BP) را در باکتری ها کد می کنند که در نسل های بعدیشان در پستانداران تبدیل به طبقه یونی کلسیم شده است. CATSPER ها یک عضو انتقالی S4 می باشند که دارای آمینواسید فعال می باشد که بین سه تا آمینواسید پراکنده شده است. CATSPER1 هم چنین دارای مقادیر زیادی هیستیدین (اسید آمینه ای که در رشد نوزادان نقش اساسی دارد) می باشد. کانال های CATSPER به عنوان واسطه شیب غلظت یون های مثبت در بخش سر اسپرم به وسیله ترشح یون کلسیم از محل ذخیره داخلی که در بخش گردن موجود است شده و واکنش وابسته به تغییر غلظت را تحریک می کند. به طور کلی چهار نوع CATSPER موجود می باشند که عبارتند از :

1. CATSPER1
2. CATSPER2
3. CATSPER3
4. CATSPER4

مطالعه دموت و همکاران (۱۹۹۲) در زمینه عملکرد ژن CATSPER در باروری، نشان داده شده است که در همه پستاندارانی که تا به حال به صورت عملی آزمایش شده اند، این ژن نقش اساسی دارد. به هر حال عملکرد آن می تواند از گونه ای به گونه ای دیگر تغییر کند. هم چنین این ژن در خزندگان و دوزیستان نیز به صورت فعالی نقش دارد ولی در پرندگان، ماهی ها، حشرات، کرم ها و گیاهان مشاهده نشده است. زیست شناسانی که سیر تکاملی در حیوانات را بررسی می کنند پیشنهاد کردند که در طول فرایند انتخاب طبیعی گونه هایی که دارای تخمک ضخیم تر هستند (مانند موش و انسان) کاربرد ژن CATSPER در جنس نر را حفظ کرده اند در حالی که گونه هایی که دارای تخمک نازک هستند مانند پرندگان و ماهی ها عملکرد این ژن را از دست دادند (۱۳،۹). از نظر عملکرد فیزیولوژیکی، کانال CATSPER تنها محدود به حرکت در اسپرم می باشد که به طبع آن با انتقال یون

کلسیم و ایجاد عدم تعادل در غلظت یونی باعث می شود که حرکت اسپرم از نظر قدرت و سرعت افزایش یابد. علاوه بر این، این نوع کانال کلسیمی منحصر به فرد برای تحریک حرکت تازیانه ای اسپرم ضروری می باشد. در نتیجه قدرت نفوذ به تخمک و رسیدن اسپرم به لوله فالوپ را ممکن می سازد. حرکت تازیانه ای دم اسپرم باعث می شود که قدرت بخش قدامی اسپرم افزایش یافته و هم چنین حرکت اسپرم از بیضه ها به میزراه را ممکن سازد (۱۰،۱۸،۱۹). کانال کلسیمی ژن CATSPER با دیگر کانال های یونی و پمپ های کانال های یونی در ارتباط می باشد که بدین وسیله ورود کلسیم مورد نیاز برای تغییرهای سریع در تحریک اسپرم و حرکت های آن را آسان می کند و اجازه می دهد تا اسپرماتوزوئید از میان لوله فالوپ در جنس ماده مسیریابی نموده و به تخمک بالغ برای بارور کردن برسد (۱۱).

این نتایج نقش اصلی این ژن را در باروری مردان نشان می داد. با توجه به نتایج، بیان ژن CATSPER در باروری مردان نقش بسزایی دارد که در مطالعه های متعددی بیان این ژن را بررسی کرده اند.

۵. در مطالعه محمدی و همکاران که در سال ۲۰۱۳، تأثیر ویتامین E را بر روی بیان ژن CATSPER و کیفیت اسپرم بررسی کردند دیده شد که استفاده از ویتامین E به الگوی اسپرم در موش های نر مسن و جوان بهبود بخشید. علاوه بر این، بیان ژن های CATSPER با درمان با استفاده ویتامین E افزایش یافت (۱۲).

۶. در مطالعه محمدی و همکاران که در سال ۱۳۸۹ تأثیر سلنیوم را بر روی بیان ژن CATSPER در بیضه موش سوری مسن بررسی کردند، به این نتیجه رسیدند که افزایش معنی داری در میانگین بیان ژن CATSPER در موش های گروه آزمون در مقایسه گروه کنترل وجود دارد و درمان با سلنیوم در موش های مسن، شدت نسبی بیان ژن بیشتری را در مقایسه با موش های بالغ نشان می دهد (۴).

۷. در مطالعه دیگر که در سال ۱۳۹۲ توسط گروه علوم تشریح دانشکده علوم پزشکی در رابطه با تأثیر گیاه سنتی ایرانی (گالیگونوم) بر حرکت اسپرم و بیان ژن CATSPER در موش مسن صورت گرفت نتایج نشان داد که دز ۳۰ میلی گرم از عصاره گیاه گالیگونوم، می تواند

در مطالعه فانگ پنگ شو و همکاران به این نتیجه رسیدند که تغییر یا جهش در پلی مورفیسم rs1893316 *Catsper1* ممکن است موجب تخریب برخی از نواحی تنظیم کننده ژن *Catsper1* شود. فانگ پنگ شو و همکارانش وابستگی پلی مورفیسم rs1893316 را با mRNA *catsper1* و بیان پروتئین بررسی کردند به این نتیجه رسیدند که میزان بیان پروتئین و mRNA *catsper1* در بیماران با ژنوتیپ TT در مقایسه با بیماران با ژنوتیپ CC و CT به طور معنی داری پایین بود در حالی که هیچ تفاوت معنی داری در میزان بیان پروتئین بین گروه کنترل و بیماران با ژنوتیپ-های CC و CT مشاهده نشد. سرانجام نتایج تحقیق فانگ پنگ شو و همکارانش مطابق نتایج این تحقیق نشان داد که پلی مورفیسم rs1893316 (C>T) با احتمال ابتلا به بیماری آستنوزواسپریمیا ارتباط معنی داری دارد (۱۷).

نتیجه گیری

پلی مورفیسم rs1893316 با بیماری آستنوزواسپریمیا ارتباط معنی داری دارد. نتیجه به دست آمده ممکن است با تغییر خزانه ژنتیکی جمعیت مورد بررسی و یا تغییر معنی دار اندازه جمعیت، تغییر کند.

سپاسگزاری

از کلیه مسئولین مرکز درمان ناباروری جهاد دانشگاهی آذربایجان شرقی جهت در اختیار قرار دادن آزمایشگاه جنین شناسی و ژنتیک مولکولی و تجهیزات و امکانات لازم در راستای این پژوهش قدردانی و تشکر فراوان به عمل می آید.

پارامترهای اسپرم را بهبود ببخشد و موجب تغییر بیان ژن *CATSPER* در موش های مسن شود (۶). بر اساس این مطالعه ها، برای درک بیش تر و درمان قطعی بیماری آستنوزواسپریمیا می توان تحقیق در زمینه های دیگر در رابطه با ژن *CATSPER* و بیماری آستنوزواسپریمیا انجام داد. در مطالعه فانگ پنگ شو و همکاران (۲۰۱۵)، ۱۶ پلی مورفیسم ژن *CATSPER1* را در ارتباط با بیماری آستنوزواسپریمیا را بررسی کردند که این تحقیق روی ۱۹۲ بیمار مبتلا به آستنوزواسپریمیا و ۲۸۸ گروه کنترل سالم انجام گرفت (۱۷). لازم به ذکر است که این مطالعه تنها تحقیق قبل از مطالعه ما روی پلی مورفیسم مربوط به ژن *Catsper1* می باشد که در کشور چین انجام شده است.

این تحقیق، اولین گزارش از مطالعه ارتباط پلی مورفیسم rs1893316 ژن *CATSPER1* با بیماری آستنوزواسپریمیا و ناباروری مردان در میان ایرانیان است. نمونه ها بر اساس تجزیه و تحلیل مایع منی انتخاب شد. افرادی که درصد حرکت پیش رونده اسپرم آن ها کم تر از ۳۲ درصد بود انتخاب شدند. پلی مورفیسم rs1893316 واقع در اگزون یک ژن *CATSPER1* در ۵۰ بیمار مبتلا به بیماری آستنوزواسپریمیا و ۵۰ گروه کنترل سالم بررسی گردید. نتایج نشان داد که فراوانی پلی مورفیسم ژنوتیپ CC در گروه بیمار در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی دار دارد ($p < 0/05$). در حالی که، ژنوتیپ TT در گروه کنترل سالم در مقایسه با گروه بیمار افزایش معنی دار دارد ($p < 0/05$). با توجه به نتایج جدول آلل ها در فصل نتایج، معلوم می شود که آلل C در گروه بیمار و آلل T در گروه کنترل مثبت رایج است.

در مطالعه فانگ پنگ شو و همکاران (۲۰۱۵)، ارتباط بین بیماری آستنوزواسپریمیا و ۱۶ پلی مورفیسم شناخته شده ژن *CATSPER* را بررسی کردند.

CATSPER1: rs 1893316, rs 1203998, rs2845570, rs3548433, rs3814747,
CATSPER2: rs8042868,rs3853543
CATSPER3: rs17167765, rs3896260
CATSPER4: rs41284333, rs11247866,
rs12138368
,rs9970046, rs17163674

منابع

۱. آخوندی م. آمار ناباروری در ایران. ۱۳۹۱. Available from: <http://www.pajuhesh,infertility,Ebne sina.ir>.
۲. امیری م و همکاران. تاثیر کارنیتین بر پارامترهای اسپرم مردان مبتلا به آستنوزواسپرمی با علت ناشناخته. مجله ارمنان دانش. زمستان ۱۳۸۶؛ دوره ۱۲؛ شماره ۴؛ (شماره پی در پی ۴۸).
۳. کرمی نوری ر و همکاران. جنبه های روانی، اجتماعی ناباروری از دیدگاه پزشکان ایرانی. فصلنامه باروری و ناباروری. تابستان ۱۳۸۰؛ صفحات ۲۶-۱۳.
۴. محمدی ش. اثر سلنیوم بر بیان ژن Catsper در بیضه موش سوری مسن. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز. ۱۳۸۹؛ دوره ۳۲، شماره ۱؛ صفحات ۷۹-۷۳.
5. Alaa Hamada S , Estevesand Ashok Agarwal Unexplained male infertility. potential causes and managemenHuman Andrology, 2011, 87:270-280.
6. Asgari Jahromi M, et al, The Effects of Calligonum Extract on Sperm Parameters and the Rate of Apoptosis in Aged Male Mice Testis issue. Modares J Medical Sciences: Pathobiology, 2013, Vol 16, No 1, Spring, Pages: 41-54.
7. Available from: <http://www.ingenex.com/en/first-steps/understanding-infertility/causes/male-factors/asthenozoospermia/>
8. Brugh VM et al, Male factor infertility: evaluation and management. J Med Clin North Am, 2004, 88(2):367-85.
9. Cai, X et al, Evolutionary genomics reveals lineagespecific gene loss and rapid evolution of a sperm-specific ion channel complex: CatSper and CatSperβ. , 2008., PLoS ONE 3, e3569.
10. Demott, R.P et al, Hyperactivated sperm progress in the mouse oviduct. J Biol Reprod, 1992, 46:779-785.
11. Jungwirth A et al, European Association of Urology Guidelines on Male Infertility. european urology, 2012, 62: 324-323.
12. Mohammadi SH et al, Effect of Vitamin-E treatment on Catsper gene expression and sperm quality in the testis of the aging mouse. Iran J Repord Med, 2013, Vol. 11. No. 12: 989-998.
13. Navarro B et al, Ion channels that control fertility in mammalian spermatozoa. Int. J Dev. Biol, 2008,52: 607-613.
14. Organization, W.H. WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 5th edn. Cambridge. 2010.
15. Pratap A et al, Catsper channel, sperm function and male infertility. Elsevier Ltd on behalf of Reproductive Healthcare Ltd,2014.
16. Quill TA et al, A voltage-gated ion channel expressed specifically in spermatozoa. Proc Natl Acad Sci.U S A, 2001, 98(22):12527-31.

17. Shu, F et al, Analysis of the correlation of CATSPER single nucleotide polymorphisms (SNPs) with idiopathic asthenospermia. Assist Report Genet,2015.
18. Stauss, C.R et al, Sperm motility hyperactivation facilitates penetration of the hamster zona pellucida. J Biol. Reprod,1995, 53: 1280–1285.
19. Suarez S, Control of hyperactivation in sperm. Hum. Reprod, 2008, 14: 647–657.
20. Tekur S et al, Contrin, the human homologue of a germ-cell Y-box-binding protein: cloning, expression, and chromosomal localization. J Androl,1999, 20:135–144.
21. Tronchon V et al., Tumor necrosis factor-alpha-308 polymorphism in infertile men with altered sperm production or motility. Hum Reprod Update, 2008, Vol.23, No.12 pp. 2858–2866.
22. Vahidi A, et al , Effects of Different Doses of Adenosine on Sperm Motility in Infertile Men. ZUMS J ,2011, 19 (76) :48-57.