

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

پردیس دانشگاهی

زیست شناسی - ژنتیک

بررسی رابطه پلی مورفیسم ژن لپتین (*Leptin*) با ناباروری

زنان در استان گیلان

از:

زکيه قربانی

استاد راهنما:

دکتر حمیدرضا وزیری

استاد مشاور:

دکتر زیبا ظهیری

شهریور ۱۳۹۳

تقدیم به

پدر و مادر عزیز و خواهر مهربانم

که در سختی ها و دشواری های زندگی، همواره

یاوری دلسوز و فداکار و پشتیبانی محکم و مطمئن

برایم بوده اند

خداوند بزرگ را شاکرم که یاریم نمود تا این پایان نامه را با موفقیت به اتمام برسانم.

از پدر و مادر عزیزم به خاطر سالها تلاش بی‌منت و پراز عشق بی‌نهایت پاسکوزارم و سلامتی‌شان آرزوی همیشگی من است.

از لطف بی‌دریغ استاد راهنما جناب آقای دکتر وزیرری که با توصیه‌ها و نظرات ارزشمندشان در تکمیل این پایان نامه یاری ام نمودند و همچنین استاد مشاورم سرکار خانم دکتر ظهیری کمال شکر را دارم.

از اساتید گرامی داور، جناب آقای دکتر سمیع زاده و جناب آقای دکتر حسنی و نماینده تحصیلات تکمیلی جناب آقای دکتر حاصلی صمیمانه پاسکوزارم.

و همچنین از دوستان خوب و مهربانم و تمامی کسانی که به نحوی اینجانب را در انجام این پژوهش یاری نمودند بی‌نهایت ممنونم و آرزوی توفیق روزافزون آنها را در تمام مراحل زندگی دارم.

زکریه قربانی

شهریور ۱۳۹۳

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
چکیده فارسی	د
چکیده انگلیسی	ذ
فصل اول: مقدمه	
۱- مقدمه	۱
۱-۱- شیوع ناباروری	۱
۱-۲- انواع ناباروری	۱
۱-۳- بررسی ناباروری زنان	۲
۱-۴- دلایل و فاکتورهای ناباروری	۲
۱-۴-۱- علل اکتسابی (غیرژنتیکی یا محیطی)	۲
۱-۴-۱-۱- سن	۲
۱-۴-۱-۲- اختلالات وزن بدن و رژیم غذایی	۳
۱-۴-۱-۳- درمان دارویی	۳
۱-۴-۱-۴- اختلالات هیپوتالاموسی - هیپوفیزی	۴
۱-۴-۱-۴-۱- ناهنجاری‌های غده تیروئید	۴
۱-۴-۱-۴-۲- هایپر پرولاکتین	۵
۱-۴-۱-۴-۳- سندروم تخمدان پلی کیستیک (PCOS)	۵
۱-۴-۱-۴-۴- سندرم نارسایی زودرس تخمدان (POF)	۵
۱-۴-۱-۵- فاکتورهای تخمدانی	۶
۱-۴-۱-۵-۱- اختلال در تخمک‌گذاری	۶
۱-۴-۱-۵-۲- ذخیره تخمدانی کاهش یافته	۶
۱-۴-۱-۵-۳- سرطان تخمدان	۷
۱-۴-۱-۶- فاکتورهای لوله رحمی	۷
۱-۴-۱-۶-۱- اندومتریوز	۷
۱-۴-۱-۶-۲- انسداد لوله‌های رحمی	۸
۱-۴-۱-۷- فاکتور رحمی	۸
۱-۴-۱-۷-۱- بدشکلی رحمی	۸
۱-۴-۱-۷-۲- فیبروئید	۸
۱-۴-۱-۷-۳- سپتوم رحمی	۹
۱-۴-۱-۸- فاکتورهای دهانه رحم	۹
۱-۴-۱-۸-۱- تنگی دهانه رحم	۹
۱-۴-۱-۸-۲- آنتی‌بادی‌های ضد اسپرم	۹
۱-۴-۱-۹- سایر موارد محیطی	۹
۱-۴-۱-۹-۱- دیابت	۹

عنوان	صفحه
۱-۴-۱-۲-۹- استعمال سیگار و مواد مخدر	۱۰
۱-۴-۱-۳-۹- پرتو(اشعه)	۱۰
۱-۴-۱-۴-۹- بیماری‌های مسری جنسی	۱۰
۱-۴-۱-۵-۹- الکل	۱۱
۱-۴-۱-۶-۹- کافئین	۱۱
۱-۴-۲- دلایل ژنتیکی ناباروری	۱۱
۱-۴-۲-۱- اختلالات کروموزومی	۱۱
۱-۴-۲-۱-۱- سندرم ترنر	۱۱
۱-۴-۲-۲- آسیب‌های تک ژنی	۱۲
۱-۴-۲-۱- هیپوگنادوتروپیک هیپوگنادیسم	۱۲
۱-۴-۲-۳- اختلالات چند عاملی	۱۳
۱-۵-۱- جهش ژنتیکی	۱۳
۱-۵-۱- انواع جهش‌های ژنی	۱۴
۱-۶-۱- پلی‌مورفیسم	۱۵
۱-۶-۱- تفاوت جهش و پلی‌مورفیسم	۱۵
۱-۷-۱- ژن OB (ژن لپتین)	۱۵
۱-۷-۱- ویژگی‌های ژن لپتین و پروتئین حاصل از آن	۱۵
۱-۷-۲- جایگاه‌های بیان ژن لپتین	۱۶
۱-۷-۳- نقش لپتین در بدن	۱۷
۱-۷-۴- نقش لپتین در شرایط خاص	۱۷
۱-۷-۵- گیرنده لپتین (OBR)	۱۸
۱-۷-۶- نقش تنظیمی sOb-R بر فعالیت لپتین	۲۰
۱-۷-۷- محل بیان گیرنده لپتین	۲۱
۱-۷-۸- مسیرهای پیام‌دهی LEPR	۲۱
۱-۷-۹- تغییرات فیزیولوژیکی لپتین	۲۲
۱-۷-۱۰- لپتین و گرلین	۲۴
۱-۷-۱۱- اثر لپتین بر Kisspeptin	۲۴
۱-۷-۱۲- ارتباط لپتین و انسولین	۲۵
۱-۷-۱۳- ارتباط لپتین و سرطان	۲۷
۱-۷-۱۴- لپتین و سیستم ایمنی	۲۸
۱-۷-۱۵- لپتین و تولیدمثل	۳۰
۱-۷-۱۶- جهش‌های شایع ژن لپتین	۳۱
۱-۸- هدف از تحقیق	۳۲

عنوان	صفحه
فصل دوم: مواد و روش‌ها	
۱-۲- مواد و لوازم مورد نیاز.....	۳۳
۱-۱-۲- لوازم مورد نیاز برای تهیه نمونه خون.....	۳۳
۲-۱-۲- مواد و وسایل مورد نیاز جهت استخراج DNA از لوکوسیت های خون محیطی.....	۳۳
۳-۱-۲- مواد و لوازم مورد نیاز برای الکتروفورز ژل آگارز.....	۳۴
۴-۱-۲- مواد و لوازم مورد نیاز جهت انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (Polymerase Chain Reaction=PCR).....	۳۵
۵-۱-۲- مواد و لوازم مورد نیاز برای الکتروفورز محصولات PCR.....	۳۵
۶-۱-۲- آماده سازی محلول‌ها.....	۳۶
۲-۲- لیست تجهیزات مورد استفاده در آزمایشگاه.....	۳۷
۳-۲- روش کار.....	۳۸
۱-۳-۲- تهیه نمونه.....	۳۸
۲-۳-۲- استخراج DNA ژنومی از خون محیطی.....	۳۸
۳-۳-۲- ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده توسط ژل آگارز ۱٪.....	۳۹
۴-۳-۲- واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR).....	۴۱
۱-۴-۳-۲- آغازگرها (Primers).....	۴۲
۲-۴-۳-۲- چرخه حرارتی PCR پلی مورفیسم Arg105Trp ژن LEP.....	۴۴
۳-۴-۳-۲- پروفایل حرارتی واکنش PCR پلی مورفیسم Arg105Trp ژن LEP.....	۴۵
۴-۲- آنالیز آماری.....	۴۶

فصل سوم: نتایج

۳- نتایج.....	۴۷
۱-۳- خصوصیات نمونه‌ها.....	۴۷
۲-۳- نتایج بررسی‌های مولکولی.....	۴۷
۱-۲-۳- نتایج بررسی کیفیت DNA استخراج شده توسط ژل آگارز ۱٪.....	۴۷
۲-۲-۳- نتایج حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR).....	۴۸
۱-۲-۲-۳- نتایج حاصل از ژنوتایپینگ LEP.....	۴۸
۱-۱-۲-۲-۳- بررسی کیفیت محصولات PCR توسط ژل آگارز ۲٪ (الکتروفورز افقی).....	۴۸
۲-۱-۲-۲-۳- بررسی ژنوتیپی پلی مورفیسم Arg105Trp ژن LEP و نتایج آنالیز آماری آن.....	۴۹
۳-۱-۲-۲-۳- بررسی ژنوتیپی پلی مورفیسم Arg105Trp ژن LEP.....	۵۰
۴-۱-۲-۲-۳- بررسی الی پلی مورفیسم Arg105Trp ژن LEP و نتایج آنالیز آماری آن.....	۵۱

صفحه	عنوان
	فصل چهارم: بحث
۵۳.....	۴- بحث.....
۵۸.....	۴-۱- پیشنهادات.....
۵۹.....	منابع.....
۷.....	پیوست.....

فهرست جدول‌ها

عنوان	صفحه
جدول ۱-۱- ژن‌های دخیل در ایجاد هیپوگنادوتروپیک هیپوگنادیسم	۱۳
جدول ۱-۲- عوامل تنظیمی سطوح لپتین محیطی، فاکتورهای کاهش دهنده و افزایش دهنده ترشح آن	۲۳
جدول ۲-۱- مواد مصرف شده در واکنش PCR	۴۱
جدول ۲-۲- آغازگرهای مورد استفاده در پلی مورفیسم Arg105Trp	۴۲
جدول ۲-۳- چرخه حرارتی PCR پلی مورفیسم Arg105Trp ژن LEP	۴۴
جدول ۳-۱- تعداد و درصد ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم Arg105Trp ژن LEP	۵۰
جدول ۳-۲- بررسی فراوانی الی پلی مورفیسم Arg105Trp	۵۲

فهرست شکل‌ها

صفحه	عنوان
۱۶.....	شکل ۱-۱- محل قرارگیری ژن LEP روی بازوی بلند کروموزوم ۷ منطقه ۳۱ باند ۳
۱۸.....	شکل ۱-۲- محل قرارگیری ژن LEPR روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱ منطقه ۳۱ باند ۳
۱۹.....	شکل ۱-۳- تصویر شماتیک از ایزوفرم‌های رسپتور لپتین.....
۲۲.....	شکل ۱-۴- تصویر شماتیک از مسیرهای پیام دهی LEPR.....
۲۵.....	شکل ۱-۵- اثر تنظیمی لپتین بر KISS1.....
۲۶.....	شکل ۱-۶- مسیرهای سیگنالینگ لپتین و انسولین در مغز.....
۲۸.....	شکل ۱-۷- تصویر شماتیک برهمکنش مثبت تومور با استروما در سرطان سینه ناشی از جهش K303R رسپتور استروژن.....
۲۹.....	شکل ۱-۸- ارتباط لپتین با سیستم ایمنی.....
۳۱.....	شکل ۱-۹- مکانیسم‌های هورمونی ارتباط بین رژیم غذایی و ناباروری زنان.....
۴۳.....	شکل ۲-۱- انطباق (Alignment) آغازگرهای ال جهش یافته پلی مورفیسم Arg105Trp توسط نرم افزار Oligo 7.....
۴۳.....	شکل ۲-۲- انطباق (Alignment) آغازگرهای ال سالم پلی مورفیسم Arg105Trp توسط نرم افزار Oligo 7.....
۴۵.....	شکل ۲-۳- پروفایل حرارتی واکنش PCR پلی مورفیسم Arg105Trp ژن LEP.....
۴۷.....	شکل ۳-۱- تصویر ژل آگارز ۱٪ DNA ژنومی استخراج شده.....
۴۹.....	شکل ۳-۲- تصویر ژل آگارز ۲٪ مربوط به الکتروفورز محصولات PCR پلی مورفیسم Arg105Trp.....
۵۱.....	شکل ۳-۳- نمودار بررسی ژنوتیپی پلی مورفیسم Arg105Trp در دو گروه کنترل و بیمار.....
۵۲.....	شکل ۳-۴- نمودار بررسی فراوانی الی پلی مورفیسم Arg105Trp در دو گروه کنترل و بیمار.....

بررسی رابطه پلی مورفیسم ژن لپتین (*Leptin*) با ناباروری زنان در استان گیلان

زکیه قربانی

ناباروری یک اختلال سیستم تولیدمثلی است که به صورت عدم بارداری پس از طی ۱۲ ماه مقاربت منظم، بدون بهره‌گیری از روش‌های پیشگیری از بارداری تعریف می‌شود. یکی از عوامل ناباروری در زنان تغییر در عملکرد *LEP* است. لپتین، محصول ژن *OB*، بر روی بازوی بلند کروموزوم شماره ۷ قرار دارد. محل اصلی سنتز لپتین بافت چربی و نقش کلیدی آن کنترل ذخایر چربی با تنظیم تعادل انرژی است. علاوه بر آن مهارکننده طبیعی اشتها و انتقال دهنده سیگنال آمادگی بدن برای تولید مثل به مغز می‌باشد. به دلیل انرژی مورد نیاز برای تولید مثل، مغز باید بین مواد غذایی مورد دسترس و باروری تعادل ایجاد کند. به این منظور مغز از هورمون‌های مشتق از چربی مثل لپتین برای ایجاد تعادل فعالیت هورمون آزاد کننده گنادوتروپین (*GnRH*) که باعث تولید مثل می‌شود، استفاده می‌کند. یکی از پلی مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی این ژن در ناحیه اگزون شماره ۳ قرار دارد که منجر به جانشینی *Arg > Trp* در کدون ۱۰۵ می‌گردد. این مطالعه با هدف بررسی ارتباط پلی مورفیسم *Arg105Trp* ژن *LEP* با ابتلای به ناباروری زنان انجام گرفت. *DNA* ژنومی از خون محیطی ۸۶ زن مبتلا به ناباروری و ۶۰ زن سالم استخراج گردید. محدوده قطعات پلی مورفیسم به وسیله واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرازی (*PCR*) تکثیر یافتند و تحت واکنش زنجیره‌ای اختصاصی ال (AS-*PCR*) قرار گرفتند. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار *MedCalac* (*Vesion.12.1.4.0*) انجام شد. نتایج نشان می‌دهد ارتباط معنی‌داری در توزیع ژنوتیپ‌ها بین افراد بیمار و کنترل مشاهده نشد ($P = 0/21$). همچنین بررسی توزیع الی نیز تاثیر مشخصی را در رابطه با خطر ابتلای به ناباروری زنان نشان نداد ($P = 0/2$). به طور کلی، نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که در جمعیت فوق پلی مورفیسم کدون ۱۰۵ ژن *LEP* به عنوان فاکتور خطر برای ناباروری زنان مطرح نمی‌باشد. اگرچه برای تایید نتایج به دست آمده، مطالعات با تعداد بیشتر افراد بیمار و کنترل مورد نیاز است.

کلمات کلیدی: ناباروری، تولیدمثل، *Leptin*

Abstract

Association of Leptin gene polymorphism with female infertility in Guilan province

Zakieh Ghorbani

Infertility is a disease of the reproductive system defined by the failure to achieve a pregnancy after 12 months of regular unprotected sexual intercourse. One of the causes of female infertility is the malfunction of *LEP*. The leptin gene, a product of the *OB* gene, is located on chromosome 7. The main location of leptin synthesis is fat tissue and its main function is to control the reserve of the body fat. In addition, it is a natural controller of appetite and transmits the signals the brain indicating that the body is ready for reproduction. The brain, being in need of the energy for reproduction, creates a balance between fertility and the accessible food. To do so, the brain uses the hormones derived from the fat such as leptin to balance the activities of the GnRH, which is responsible for reproduction. One of the single nucleotide polymorphisms (SNP) of this gene found in exon 3 led to substitution of Arg > Trp at codon 105. The present study was aimed to evaluate whether *LEP* Arg105Trp polymorphism are related with the susceptibility to female infertility. Genomic DNA was extracted from whole-blood samples 86 patients diagnosed with female infertility and 60 controls subjects. Allele-specific polymerase chain reaction amplification (AS-PCR). Statistical analysis was performed using the MedCalc program (Version.12.1.4.0). Our results suggest that significant association were not observed in genotype distribution between cases and controls ($P= 0.21$). Also, allelic distributions of that did not appear to have significant influence on the overall risk of female infertility ($P=0.2$). In conclusion, results indicate that in the studied, *LEP* Arg105Trp polymorphism considered not to be a risk factor for the female infertility. However, future studies with studied population are needed to confirm our results.

Key words: Infertility, Reproduction, Leptin

فصل اول:

مقدمه

Introduction

۱- مقدمه

ناباروری یکی از مشکلات سلامت تولیدمثل می‌باشد که منجر به آسیب‌های روانی و عاطفی در زوجین می‌گردد و زندگی اجتماعی آنان را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Poongothai *et al.*, 2009). ناباروری به عدم بارداری پس از طی یک سال مقاربت متوالی و منظم زوجین بدون بهره‌گیری از روش‌های پیشگیری از بارداری اطلاق می‌شود (Zegers-Hochschild *et al.*, 2009).

۱-۱- شیوع ناباروری

با توجه به پدیده‌های اجتماعی مانند تمایل برای ازدواج و بچه‌دار شدن در سنین بالاتر و همچنین افزایش استفاده از روش‌های جلوگیری از بارداری، میزان ناباروری در ۳۰ سال اخیر افزایش یافته است (Bentley, 2000). بطور کلی، ناباروری در ۳۵٪ موارد ناشی از فاکتورهای زنانه، ۳۰٪ فاکتورهای مردانه، ۲۰٪ فاکتورهای مرکب از هر دو یا ۱۵٪ دلایل ناشناخته (ناباروری ایدیوپاتیک) می‌باشد (Healy *et al.*, 1994).

۱-۲- انواع ناباروری

ناباروری به دو صورت اولیه و ثانویه تقسیم می‌گردد: ناباروری اولیه به عدم وقوع بارداری گفته می‌شود و ناباروری ثانویه حالتی است که سابقه باروری وجود داشته است (Poongothai *et al.*, 2009). معمولی‌ترین حالت ناباروری، اختلال تخمک‌گذاری یا عدم تخمک‌گذاری^۱، بیماری‌های مربوط به لوله‌های تولید مثلی، پارامترهای غیرمعمول مایع منی، اندومتریوز و بیماری‌های لگنی یا رحمی می‌باشد. عوامل ایمنولوژیکی و نقایص ژنتیکی نیز جزء نادرترین حالت‌های ناباروری محسوب می‌گردند همچنین استعمال دخانیات و الکل باعث کاهش توانایی باروری می‌شوند (Stillman *et al.*, 1986). در ۱۶-۱۵٪ از زوج‌های نابارور، علت ناباروری هنوز ناشناخته می‌باشد و تحت عنوان ناباروری ایدیوپاتیک^۲ یا ناشناخته نام می‌گیرد (Aboulghar *et al.*, 2001).

1 - anovulation

2 - Idiopathic infertility

۱-۳- بررسی ناباروری در زنان

ناباروری یک سندرم چند عاملی^۱ است که شرایط محیطی و ژنتیکی در ایجاد آن دخیلند. همچنین فاکتورهایی چون عامل تخمک‌گذاری، لوله رحمی، عامل صفاقی^۲ در این بیماری حائز اهمیت است. برای تشخیص ناباروری در زنان عوامل متعددی در نظر گرفته می‌شود مانند: تاریخچه بیماری‌هایی نظیر آمنوره^۳، بیماری‌های التهابی لگنی، یائسگی زودرس، بیماری‌های آندوکراین مثل مشکلات تیروئیدی، درد شکم، بیماری گالاکتوره^۴ یا خروج غیرطبیعی شیر از پستان، سابقه جراحی، سن بالای ۳۵ سال، تماس محیطی با دارو و مواد شیمیایی مضر، نقایص مادرزادی، ناهنجاری واژن و گردن رحم (Makar and Toth, 2002).

۱-۴- دلایل و فاکتورهای ناباروری

علل یا عوامل ناباروری در زنان را می‌توان براساس اینکه آیا آنها اکتسابی هستند و یا ژنتیکی، و یا حتی وابسته به محل، طبقه‌بندی کرد. علیرغم این طبقه‌بندی، معمولاً ناباروری زنان ترکیبی از استعداد ذاتی فرد و محیط می‌باشد. همچنین وجود هر فاکتور خطر به تنهایی لزوماً باعث ایجاد ناباروری در زنان نمی‌گردد و حتی اگر یک زن قطعاً نابارور باشد، نمی‌توان با اطمینان یک عامل خطر را که در حال حاضر وجود دارد عامل اصلی دانست (Saner-Amigh and Halvorson, 2011).

۱-۴-۱- علل اکتسابی (غیر ژنتیکی یا محیطی)

هر عاملی که اساس جهش ژنتیکی نباشد، از جمله قرار گرفتن جنین در حال رشد در معرض مواد سمی در داخل رحم، که ممکن است سال‌ها بعد باعث ناباروری در سنین بزرگسالی جنین شود، در این گروه قرار می‌گیرد (Woodruff *et al.*, 2011).

۱-۴-۱-۱- سن

باروری زنان تحت تاثیر سن آنها قرار دارد. یک زن در اواسط دهه بیست سالگی در حداکثر سن باروری قرار دارد و پس از آن قدرت باروری با افزایش سن، کاهش می‌یابد و این کاهش بعد از سن ۳۰ سالگی با سرعت بیشتری اعمال می‌شود. با این حال نمی‌توان بطور دقیق یک سن خاص را برای شانس باروری مشخص کرد (Akhter and Jebunnaher, 2012).

1 - multifactorial syndromee

2 - Peritoneal factors

3 - Amenorhea

4 - Galactorrhea

با افزایش سن مادر ناهنجاری‌های کروموزومی مثل سندرم داون، ناهنجاری‌های مورفولوژیک و کاهش ذخیره تخمدانی افزایش چشم‌گیری پیدا می‌کند (Ford, 2013).

ناباروری در زنان بالای ۳۵ سال با ناهنجاری‌های اووسیت ارتباط دارد. دوک‌های میتوزی در اووسیت که برای شکل‌گیری و نظم میکروتوبول‌ها دارای اهمیت هستند، دچار ناهنجاری می‌شوند. یکی از علت‌های عمده از دست دادن حاملگی، آنیوپلوئیدی بوده که دلیل اصلی اختلالات رشد و عقب ماندگی ذهنی در افراد مبتلا به سندرم داون می‌باشد (Lister *et al.*, 2010). در انسان، خطا در جداسازی^۱ کروموزوم‌ها طی میوز، سقط جنین و نقص در جنین (مانند سندرم داون)، با افزایش سن مادر ارتباط مستقیم دارد، و دلیل اکثر آنیوپلوئیدی‌های مرتبط با سن مادر به دلیل عدم جدا شدن کروموزوم‌ها و اشتباهات میوزی، طی میوز I ایجاد می‌شود (Pan *et al.*, 2008).

۱-۴-۱-۲- اختلالات وزن بدن و رژیم غذایی

۱۲٪ از علل ناباروری مربوط به کمبود یا اضافه وزن می‌باشد. سلول‌های چربی و اندام‌های جنسی اولیه، هورمون استروژن تولید می‌کنند. چربی بالا بدن سبب تولید بیش از حد استروژن شده و بدن به استروژن اضافی واکنش می‌دهد (Nelson and Fleming, 2007). چربی بیش از حد کم بدن نیز باعث تولید ناکافی استروژن و اختلال در چرخه قاعدگی می‌شود. وزن زیاد و کم هر دو باعث ایجاد چرخه قاعدگی نامنظم شده که در آن تخمک گذاری رخ نمی‌دهد و یا ناکافی است. تغذیه مناسب در دوران اولیه زندگی نیز یک عامل مهم برای باروری در بزرگسالی محسوب می‌شود (Sloboda *et al.*, 2011). تحقیقی در آمریکا نشان داد که حدود ۲۰٪ از زنان نابارور در گذشته یا زمان حال اختلال تغذیه دارند که این میزان پنج برابر بیشتر از نرخ رایج در طول عمر یک فرد طبیعی می‌باشد. نتایج یک بررسی در سال ۲۰۱۰ نشان داد که در زنان نابارور مبتلا به چاقی و اضافه وزن، کاهش احتمالی وزن می‌تواند به عنوان یک درمان برای ناباروری موفق در آنها استفاده شود (Koning *et al.*, 2010).

۱-۴-۱-۳- درمان های دارویی

درمان دارویی به عنوان یک خطر بزرگ برای باروری محسوب می‌شود. ناباروری ناشی از شیمی درمانی (درمان های دارویی) در زنان از نوع ناباروری ثانویه است که ناشی از نارسایی زودرس تخمدان بوسیله از دست دادن فولیکول های اولیه می‌باشد (Morgan *et al.*, 2012).

بعد از سه سری شیمی درمانی تعداد فولیکول های انترال^۱ کاهش یافته (تعداد کل فولیکول های هر دو تخمدان)، در حالی که سطح هورمون تحریک کننده فولیکول FSH^۲ بعد از چهار سری شیمی درمانی به سطح یائسگی می رسد (Rosendahl *et al.*, 2010).

۱-۴-۱-۴- اختلالات هیپوتالاموسی - هیپوفیزی

هیپوتالاموس مسئول ارسال پیام به غده هیپوفیز می باشد و هیپوفیز نیز FSH و هورمون جسم زرد (LH^۳) را تولید و ترشح کرده و آنها را برای بلوغ تخمک به تخمدان ارسال می کند. اگر هیپوتالاموس توان تحریکی و کنترل ارسال پیام را از دست بدهد و یا میزان هورمون FSH, LH ترشح شده از هیپوفیز تغییر کند، باعث ایجاد اختلال در روند تخمک گذاری می گردد (Buchter *et al.*, 1998).

شایع ترین اختلال در کم کاری هیپوفیز مشکل کمبود FSH یا LH است که منجر به اختلالات هورمون های جنسی می شود (Schneider *et al.*, 2007). از فاکتورهای هیپوتالاموسی- هیپوفیزی مرتبط با ناباروری می توان به موارد زیر اشاره کرد:

۱-۴-۱-۴-۱- ناهنجاری های غده تیروئید

علت ارتباط هورمون تیروئید با هورمون های جنسی این است که این هورمون دارای گیرنده بر روی اووسیت انسانی بوده و در تولید هورمون پروژسترون از جسم زرد با هورمون LH و گنادوتروپین کوریونی^۴ انسانی همکاری می کند (Wakim *et al.*, 1993).

مطالعات نشان می دهد که کم کاری و پرکاری تیروئید با اختلالات قاعدگی و کاهش باروری در ارتباط است (Maruna, 2006). هورمون های تیروئیدی در مکانیسم های طبیعی رشد، نمو جنینی و عملکردهای تولید مثلی ضروری می باشند (Nemade *et al.*, 2012).

اختلال در عملکرد تیروئید می تواند منجر به عدم تخمک گذاری، نقص در فاز لوتئال، هایپر پرولاکتین و عدم تعادل در میزان هورمون های جنسی گردد، به همین دلیل عملکرد صحیح تیروئید جهت باروری و بارداری سالم ضروری است (Poppe *et al.*, 2007).

1 - Antral follicle count (AFC)

2 - Follicular stimulating hormone

3 - Luteinizing hormone

4 - Human chorionic gonadotropin

۱-۴-۱-۲- هایپر پرولاکتین

هایپر پرولاکتین سطوح غیرطبیعی بالا پرولاکتین در خون است. پرولاکتین یک هورمون پپتیدی تولید شده توسط غده هیپوفیز قدامی است که در درجه اول با شیردهی در ارتباط است و نقش حیاتی در تکامل پستان بازی می کند و مانع آزاد شدن گنادوتروپین به دلیل ممانعت از ترشح ضربانی GnRH می شود (Melmed *et al.*, 2011). دلایل فیزیولوژیکی هایپر پرولاکتین عبارتند از بارداری، شیردهی و استرس (Mancini *et al.*, 2008). افزایش قابل توجه در میزان پرولاکتین سبب بروز هیپوگنادیسم، عدم تخمک گذاری منظم، ناکافی بودن هورمون پروژسترون بعد از تخمک گذاری، نقص در فاز لوتئال، عدم قدرت لانه گزینی جنین و ناباروری می شود (Klibanski, 2010; Shibli-Rahhal and Schlechte, 2011).

۱-۴-۱-۳- سندرم تخمدان پلی کیستیک (PCOS)

سندرم تخمدان پلی کیستیک^۱ یکی از شایع ترین اختلالات غدد درون ریز ناشی از عدم تعادل هورمونی است، که یکی از علل اصلی ناباروری در زنان به حساب می آید (Goldenberg and Glueck, 2008). در این بیماری سطوح هورمون LH افزایش یافته و نسبت هورمون LH به FSH بیشتر از ۱:۱ می شود (Lewandowski *et al.*, 2010). از علائم متداول این سندرم می توان به موارد زیر اشاره کرد: اختلال در سیکل قاعدگی، ناباروری ناشی از عدم تخمک گذاری، مقاومت به انسولین، افزایش هورمون آندروژن، آمنوره، عدم تعادل هورمونی، دیابت نوع ۲ و میزان بالای کلسترول (Teede *et al.*, 2010). این بیماری یک عارضه چند عاملی است که به علت افزایش هورمون لوتئینی کننده و بالا رفتن سطوح آندروژن و در نتیجه اختلال در تشکیل فولیکول و عدم تخمک گذاری رخ می دهد (Harris-Glocker and McLaren, 2013).

۱-۴-۱-۴- سندرم نارسایی زودرس تخمدان (POF)

ضعف تخمدانی زودرس^۲ باعث یائسگی زودرس ناشی از کاهش میزان فولیکول های تخمدانی یا توقف در تشکیل فولیکول قبل از سن ۴۰ سالگی می شود و فرد دچار آمنوره ثانویه خواهد شد. علت POF معمولاً ناشناخته است. برخی از دلایل POF به اختلالات خودایمنی، ناهنجاری های ژنتیکی مانند سندرم ترنر و سندرم X شکننده نسبت داده می شود (Prakash *et al.*, 2009). شیمی درمانی و پرتو درمانی برای درمان سرطان گاهی اوقات باعث نارسایی تخمدان می شود (Rebar, 2009).

1 - Polycystic ovarian syndrome

2 - Premature ovarian failure

قطع قاعدگی، کاهش میزان استروژن و افزایش گنادوتروپین ها قبل از ۴۰ سالگی از مشخصه های این بیماری به شمار می آید (Waad *et al.*, 2006).

ناباروری ناشی از POF به دلیل عدم وجود فولیکول ها و یا عدم پاسخ به تحریکات هورمونی رخ می دهد (Nelson, 2009). احتمال بروز این بیماری در افراد یک خانواده فرضیه وجود ژن یا ژن هایی که سبب افزایش شانس ابتلا به POF می شود را بیشتر می کند (Shelling, 2010).

۱-۴-۱-۵- فاکتورهای تخمدانی

۱-۴-۱-۵-۱- اختلال در تخمک گذاری^۱

یکی از دلایل شایع ناباروری عدم تخمک گذاری طی چرخه قاعدگی می باشد که از علل شایع آن می توان به عدم تعادل شیمیایی و هورمونی و مشکلات عملکردی تخمدان اشاره کرد.

حدود نیمی از زنان با عدم تعادل هورمونی به اندازه کافی فولیکول تولید نمی کنند که ناشی از ترشحات هورمونی ضعیف از غده هیپوفیز یا هیپوتالاموس می باشد. هیپوفیز بسیاری از غدد ترشح کننده هورمون از جمله تخمدان ها را کنترل می کند. هیپوفیز نیز توسط هیپوتالاموس کنترل می شود. در ۱۰٪ موارد تغییرات پیام های شیمیایی از هیپوتالاموس به طور جدی می تواند بر تخمدان ها تاثیر بگذارد (Piek *et al.*, 2008).

مشکلات عملکردی تخمدان (۱۵-۱۰٪ موارد)، فقدان وجود تخمک (۵٪ موارد)، انسداد کامل مجاری تخمدان (به ندرت) و عدم پاره شدن فولیکول، مواردی از دلایل عدم تخمک گذاری به حساب می آید (Azziz, 2004). همچنین کاهش وزن و بی اشتهایی و اضافه وزن می تواند باعث عدم تعادل هورمونی و اختلال در تخمک گذاری شود (Barbieri, 2001).

۱-۴-۱-۵-۲- ذخیره تخمدانی کاهش یافته^۲

ذخیره تخمدانی اصلاحی است که برای تعیین ظرفیت تخمدان برای ارائه تخمک هایی که قابلیت باروری و لقاح را در طی یک بارداری سالم و موفق داشته باشند به کار می رود.

هیچ روش شناخته شده ای برای ارزیابی ذخیره تخمدانی وجود ندارد ولی تعیین غیرمستقیم ذخیره تخمدان برای درمان ناباروری مهم است (Broekmans *et al.*, 2006).

1 - Anovulation

2 - Diminished ovarian reserve

۱-۴-۱-۵-۳- سرطان تخمدان

مطالعات اپیدمیولوژیکی نشان می‌دهد که خطر ابتلا به سرطان تخمدان در زنان نابارور و زنانی که فرزندی ندارند نسبت به زنانی که دارای فرزند می‌باشند افزایش پیدا می‌کند (Wu *et al.*, 2003).
 علت ۹۰ درصد سرطان های تخمدان به دلیل تومورهای اپی تلیالی می‌باشد. اگرچه لوله فالوپ نیز می‌تواند این سرطان را ایجاد کند زیرا تخمدان ها و لوله های رحمی در ارتباط تنگاتنگی با یکدیگر قرار دارند (Piek *et al.*, 2008).

۱-۴-۱-۶- فاکتورهای لوله رحمی

نقش اصلی و مهم لوله‌های رحمی^۱، ایجاد محلی برای عبور تخمک رها شده از تخمدان، عمل لقاح و انتقال به رحم می‌باشد. اختلال عملکردی لوله های رحمی در انتقال تخمک لقاح یافته باعث بارداری خارج رحمی می‌گردد.
 نقص در لوله‌های رحمی و صفاقی یک مانع مهم در امر باروری می‌باشد و از شایع‌ترین عوامل ناباروری محسوب می‌گردد (Harris-Glocker and McLaren, 2013).

۱-۴-۱-۶-۱- اندومتریوز

اندومتریوز^۲ یک بیماری زنانه است که در آن سلول‌های پوششی داخل رحم (اندومتر) در خارج بافت رحمی، درون حفره شکمی، یافت می‌شوند. سلول‌های اندومتر خارج از رحم نیز مانند سلول‌های درون رحم تحت تاثیر هورمون‌های زنانه مانند استروژن قرار دارند و به تغییرات هورمونی پاسخ می‌دهند. از عوارض شایع این بیماری می‌توان به درد در ناحیه شکم و لگن، قاعدگی دردناک، سقط و ناباروری اشاره کرد (Trașcă *et al.*, 2011). اندومتریوز در ۱۰-۶٪ زنان که در سن باروری قرار دارند، دیده می‌شود (Bulletti *et al.*, 2010). تاکنون درمان قطعی برای این بیماری یافت نشده است اما می‌توان با روش‌های گوناگون مثل درمان دارویی، هورمون درمانی و جراحی، بهبودی نسبی ایجاد کرد (Culley *et al.*, 2013).
 اندومتریوز در بیماران مبتلا به ناباروری به میزان بیشتری نسبت به جمعیت عادی دیده می‌شود. دلایل عمده سقط و عدم کاشت جنین در زنان مبتلا به این بیماری ناشی از تغییرات ایمنی هومورال^۳ و سلولی در این زنان می‌باشد.
 اثرات منفی تغییرات ایمونولوژیک فولیکولنز، تخمک گذاری، رشد و نمو اولیه جنین و کاشت در زنان مبتلا به اندومتریوز نشان می‌دهد که ناباروری در این بیماران ممکن است مربوط به تغییرات در فولیکول یا تخمک در نتیجه کاهش توانایی کاشت جنین

1 - Tubal factors
 2 - Endometriosis
 3 - Humoral