



دانشکده علوم پایه

پایان نامه کارشناسی ارشد

بررسی پلی مورفیسم کدون های ۷۲ و ۲۴۹ ژن p53

و نتیجه لقاح مصنوعی

از:

صنم جعفری

استاد راهنما:

دکتر زیور صالحی

شهریور ۱۳۹۲



دانشکده علوم پایه

گروه زیست شناسی

(گرایش تکوین سلولی)

بررسی پلی مورفیسم کدون های ۷۲ و ۲۴۹ ژن p53

و نتیجه لقاح مصنوعی

از:

صنم جعفری

استاد راهنما:

دکتر زیور صالحی

استاد مشاور:

دکتر محمد هادی بهادری

شهریور ۱۳۹۲

سپاس و ستایش مرخداى راجل و جلالة كه آثار قدرت او بر چهره روز روشن، تابان است و انوار حكمت او در دل شب تار، در فشان.

آفریدگاری كه خویشن را به ما شناساند و درهای علم را بر ما كشود و عمری و فرصتی عطا فرمود تا بدان، بنده ضعیف

خویش را در طریق علم و معرفت بیازماید.

تقدیم به

مقدس ترین و اثره مادر لغت نامه دلم،

مادر عزیز و مهربانم كه زندگیم را دیون مهر و عطوفتش می دانم و

پدر عزیزم كه همواره بر دبار و حامی من بوده است و

همسر م كه سایه مهربانیش سایه ساز زندگیم است و

برادرم كه وجودش سایه آرامش من است.

به مصداق حدیث «هر کس در مقابل احسان و نیکی بندگان خداوند شکرگزاری نکند خدا را شکر نمکفته است» بسی شایسته است از

استاد فریخته و فرزانه سرکار خانم دکتر صالحی که با کرامتی چون خورشید، سرزمین دل را روشنی بخشیدند و گلشن سرای

علم و دانش را بار بار بهمنای های کار ساز و سازنده اشان بارور ساختند، تقدیر و شکر نمایم. همچنین از استاد ارجمندم جناب

آقای دکتر بهادی که زحمات مشاوری این پایان نامه را پذیرفتند و از اساتید گرامی جناب آقای پروفور مشایخی و

جناب آقای دکتر وزیر می که زحمات داوری این پایان نامه را بر عهده گرفتند، کمال شکر و قدردانی را دارم.

باشد که بتوانم جزئی از زحمات، تلاش و اراده کم نظیرشان را پاس دارم.

فهرست مطالب

عنوان..... صفحه

چکیده فارسی ز

چکیده انگلیسی س

فصل اول: مقدمه

۱- مقدمه ۱

۱-۱- ناباروری در زنان ۱

۱-۱-۱- علل جسمی ناباروری در زنان ۱

۱-۱-۱-۱- اندومتريوز ۱

۱-۱-۱-۲- سندرم پلی کیستیک تخمدانی ۲

۱-۱-۱-۳- اختلالات لوله رحمی ۲

۱-۱-۱-۴- عفونت و بیماری های شکمی ۲

۱-۱-۱-۵- یائسگی زودرس ۲

۱-۱-۱-۶- اختلالات تخمک گذاری و هورمونی ۳

۱-۱-۲- عوامل محیطی ۳

۱-۱-۲-۱- سن ۳

۱-۱-۲-۲- وزن ۳

۱-۱-۲-۳- شیوه زندگی و عادات فردی ۴

۱-۲- ناباروری در مردان ۴

۱-۲-۱- علل غیر ژنتیکی ۴

۱-۲-۱-۱- واریکوسل ۵

۱-۲-۱-۲- آنتی بادی های ضد اسپرمی ۵

۱-۲-۱-۳- هیپوگنادیسم هیپوتروفیک ۵

۵	۱-۲-۲-علل غیر ژنتیکی
۵	۱-۲-۲-۱-اختلالات کروموزومی
۵	۱-۲-۲-۲-سندرم کلاین فلتر
۶	۱-۲-۲-۳-ریز حذف های کروموزوم Y
۶	۱-۲-۳-فاکتورهای محیطی
۷	۱-۴-روش های درمانی ناباروری
۷	۱-۴-۱-تکنیک های کمک کننده باروری (ART)
۷	۱-۴-۱-۱-تلقیح اسپرم به داخل رحم (IUI)
۷	۱-۴-۱-۲-روش انتقال گامت ها به لوله فالوپ (GIFT)
۸	۱-۴-۱-۳-روش انتقال جنین به لوله های فالوپ (ZIFT)
۹	۱-۴-۱-۴-تزریق اسپرم به داخل تخمک (ICSI)
۹	۱-۴-۱-۵-Assisted Hatching (AH)
۱۰	۱-۴-۱-۶-تشخیص ژنتیکی پیش از لانه گزینی (PGD)
۱۰	۱-۴-۱-۷-لقاح مصنوعی (IVF)
۱۱	۱-۴-۲-مراحل IVF
۱۴	۱-۵-۱-عوامل محیطی موثر در IVF
۱۴	۱-۵-۱-۱-شیوه زندگی
۱۴	۱-۵-۱-۱-سن
۱۵	۱-۵-۱-۲-وزن
۱۵	۱-۵-۱-۲-۱-لاغری
۱۵	۱-۵-۱-۲-۲-چاقی
۱۵	۱-۵-۱-۳-استرس
۱۶	۱-۵-۱-۴-مصرف الکل
۱۶	۱-۵-۱-۵-مصرف سیگار
۱۷	۱-۵-۱-۶-مصرف کافئین

۱۷.....	۷-۱-عوامل ژنتیکی
۱۷.....	۷-۱-۱-خانواده P53
۱۷.....	۷-۱-۲-ساختارژن P53
۱۸.....	۷-۱-۳-ساختار پروتئین P53
۱۸.....	۷-۱-۴-عملکرد فیزیولوژیکی ژن P53
۱۹.....	۷-۱-۵-تنظیم پروتئین P53
۱۹.....	۷-۱-۵-۱-تعامل پروتئین-پروتئین
۱۹.....	۷-۱-۵-۲-مسیر های فعال کننده P53
۲۱.....	۷-۱-۶-عملکردهای موثر P53
۲۱.....	۷-۱-۶-۱-تنظیم چرخه سلول
۲۲.....	۷-۱-۶-۱-۱-توقف در فاز G1
۲۲.....	۷-۱-۶-۲-۱-توقف در فاز G2
۲۳.....	۷-۱-۶-۲-آپوپتوزیس
۲۳.....	۷-۱-۶-۲-۱-مسیر داخلی یا مسیر میتو کندریایی
۲۴.....	۷-۱-۶-۲-۲-مسیر بیرونی یا مسیر وابسته به گیرنده های غشایی مرگ
۲۶.....	۷-۱-۷-P53 و باروری
۲۶.....	۷-۱-۸-پلی مورفیسم های پروتئین P53
۲۷.....	۷-۱-۸-۱-پلی مورفیسم کدون ۴۷
۲۸.....	۷-۱-۸-۲-پلی مورفیسم کدون ۲۱۷
۲۸.....	۷-۱-۸-۳-پلی مورفیسم کدون ۳۶۰
۲۸.....	۷-۱-۸-۴-پلی مورفیسم کدون ۲۴۹
۲۹.....	۷-۱-۸-۵-پلی مورفیسم کدون ۷۲
۳۱.....	۸-۱-هدف از تحقیق

فصل دوم: مواد و روش ها

۱-۲- مواد و لوازم مورد نیاز ۳۳

۱-۱-۲- مواد و لوازم مورد نیاز جهت نمونه گیری ۳۳

۲-۱-۲- مواد و لوازم مورد نیاز جهت استخراج DNA از لکوسیت های محیطی ۳۳

۳-۱-۲- مواد و لوازم مورد نیاز در الکتروفورز ژل آگارز جهت ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده ۳۳

۴-۱-۲- مواد و لوازم مورد نیاز جهت انجام واکنش زنجیره ای پلی مرز (PCR) ۳۴

۵-۱-۲- مواد و لوازم مورد نیاز در الکتروفورز محصولات PCR به کمک ژل آگارز ۳۴

۶-۱-۲- آماده سازی بافرها و محلول ها ۳۵

۲-۲- لیست دستگاه ها و تجهیزات مورد نیاز ۳۵

۳-۲- روش کار ۳۶

۱-۳-۲- نمونه گیری ۳۶

۲-۳-۲- استخراج DNA ژنومی از لکوسیت های خون محلی ۳۶

۳-۳-۲- ارزیابی کیفیت استخراج DNA به کمک ژل آگارز (الکتروفورز افقی) ۳۸

۴-۳-۲- انجام واکنش زنجیره ای پلیمرازی (PCR) ۳۹

۱-۴-۳-۲- واکنش PCR ۳۹

۱-۱-۴-۳-۲- انجام واکنش زنجیره ای PCR ۴۰

۲-۱-۴-۳-۲- واکنش PCR برای تکثیر کدون ۲۴۹ ژن P53 ۴۰

۳-۱-۴-۳-۲- چرخه حرارتی PCR کدون ۲۴۹ ژن P53 ۴۲

۲-۲-۴-۳-۲- واکنش PCR کدون ۷۲ ژن P53 ۴۳

۳-۲-۴-۳-۲- چرخه حرارتی PCR کدون ۷۲ ژن P53 ۴۶

۴-۲- آنالیز آماری ۴۷

فصل سوم: نتایج

۳- نتایج ۴۸

۴۸.....	۱-۳- بررسی خصوصیات نمونه ها
۴۸.....	۲-۳- نتایج بررسی های مولکولی
۴۸.....	۱-۲-۳- نتایج بررسی کیفیت DNA استخراج شده توسط ژل آگارز ۰/۱٪ (الکتروفورز افقی)
۴۹.....	۲-۲-۳- نتایج حاصل از واکنش زنجیره ای پلی مرز (PCR)
۴۹.....	۳-۳- نتایج پلی مورفیسم کدون ۲۴۹ ژن P53
۵۰.....	۱-۳-۳- نتایج آنالیز آماری کدون ۲۴۹ ژن P53
۵۰.....	۱-۱-۳-۳- بررسی فراوانی آلی پلی مورفیسم کدون ۲۴۹ ژن P53 در افراد مبتلا به ناباروری و افراد سالم
۵۲.....	۲-۱-۳-۳- بررسی فراوانی ژنوتیپی کدون ۲۴۹ ژن P53
۵۳.....	۴-۳- نتایج پلی مورفیسم کدون ۷۲ ژن P53
۵۴.....	۱-۴-۳- نتایج آنالیز آماری کدون ۷۲ ژن P53
۵۴.....	۱-۱-۴-۳- بررسی فراوانی آلی پلی مورفیسم کدون ۷۲ ژن P53 در افراد مبتلا به ناباروری و افراد سالم
۵۶.....	۲-۱-۴-۳- بررسی فراوانی ژنوتیپی کدون ۷۲ ژن P53

فصل چهارم: بحث

۵۸.....	۱-۴- بحث و نتیجه گیری
۶۳.....	۲-۴- پیشنهادات
۶۴.....	منابع

فهرست اشکال

عنوان	صفحه
شکل (۱-۱): ریز حذف های کروموزوم Y.....	۶
شکل (۲-۱): روش انتقال گامت ها به لوله فالوپ (GIFT).....	۸
شکل (۳-۱): ایجاد منفذ در ناحیه شفاف اطراف اووسیت (AH).....	۱۰
شکل (۴-۱): لقاح مصنوعی (IVF).....	۱۱
شکل (۵-۱): دمین های مختلف پروتئین P53.....	۱۸
شکل (۶-۱): مسیرهای تنظیمی P53.....	۲۰
شکل (۷-۱): فازهای مختلف چرخه سلولی با کمپلکس های Cdk/cyclin.....	۲۲
شکل (۸-۱): انواع مسیرهای مرگ برنامه ریزی شده سلولی فعال شده توسط P53.....	۲۵
شکل (۱-۲): انطباق کدون ۲۴۹ با نرم افزار oligo 7.....	۴۲
شکل (۲-۲): اطلاعات آغازگرهای کدون ۲۴۹ از oligo 7.....	۴۲
شکل (۳-۲): پروفایل حرارتی کدون ۲۴۹ ژن P53.....	۴۳
شکل (۴-۲): انطباق کدون ۷۲ با نرم افزار oligo 7.....	۴۵
شکل (۵-۲): اطلاعات آغازگرهای کدون ۷۲ از oligo 7.....	۴۵
شکل (۶-۲): پروفایل حرارتی کدون ۷۲ ژن P53.....	۴۶
شکل (۱-۳): تصویر DNA ی استخراج از لکوسیت های خون محیطی.....	۴۸
شکل (۲-۳): محصولات PCR کدون ۲۴۹ ژن P53 بر ژل آگارز ۲٪.....	۵۰
شکل (۳-۳): نمودار درصد فراوانی الی کدون ۲۴۹ ژن P53 در دو گروه بیمار و کنترل.....	۵۱
شکل (۴-۳): نمودار درصد فراوانی ژنوتیپی کدون ۲۴۹ ژن P53 در دو گروه سالم و بیمار.....	۵۲
شکل (۵-۳): محصولات PCR کدون ۷۲ ژن P53 بر ژل آگارز ۲٪.....	۵۴

شکل (۳-۶): نمودار درصد فراوانی اللی کدون ۷۲ ژن P53 در دو گروه بیمار و کنترل..... ۵۵

شکل (۳-۷): نمودار درصد فراوانی ژنوتیپی مشاهده شده در کدون ۷۲ ژن P53 در دو گروه بیمار و کنترل..... ۵۷

فهرست جداول

عنوان.....	صفحه
جدول (۱-۱): ارتباط میزان لانه گزینی جنین با سن مادر.....	۱۴
جدول (۱-۲): ارتباط برخی از پلی مورفیسم های P53 با برخی از سرطان ها.....	۲۷
جدول (۱-۳): ارتباط پلی مورفیسم های کدون ۲۴۹ و ۷۲ ژن P53 با انواع بیماری ها	۳۰
جدول (۱-۴): فراوانی اللی ژن پروتئین P53 در کدون ۷۲ در جمعیت های مختلف	۳۱
جدول (۲-۱): مواد مصرفی مورد نیاز PCR در ژن P53	۴۰
جدول (۲-۲): توالی پرایمر های به کار رفته جهت تکثیر قطعه حاوی کدون ۲۴۹ ژن P53	۴۱
جدول (۲-۳): توالی پرایمرهای به کار رفته جهت تکثیر قطعه حاوی کدون ۷۲ ژن P53	۴۴
جدول (۳-۱): فراوانی اللی پلی مورفیسم کدون Arg ۲۴۹ Ser ژن p53.....	۵۲
جدول (۳-۲): نتایج مربوط به فراوانی ژنوتیپ مشاهده شده در کدون ۲۴۹ ژن p53	۵۳
جدول (۳-۳): فراوانی اللی پلی مورفیسم کدون Pro 72 Arg ژن P53	۵۶
جدول (۳-۴): نتایج مربوط به فراوانی ژنوتیپی مشاهده شده در کدون ۷۲ ژن P53	۵۷

چکیده

ناباروری یک بیماری دستگاه تولید مثلی است که به صورت عدم موفقیت در باروری بعد از ۱۲ ماه مقاربت جنسی منظم بدون جلوگیری تعریف می شود. از کل زوج ها، که به عنوان نابارور شناخته می شوند، حدود ۵۰-۴۰٪ از علت های ناباروری مربوط به زنان، در ۴۰-۳۰٪ زوج های نابارور، علت ناباروری مربوط به مردان است، در حالیکه ۳۰-۱۰٪ از علت ناباروری هم مشترک بین زنان و مردان بوده و یا به صورت ناشناخته می باشد. لقاح مصنوعی از موفق ترین روش های درمانی ناباروری می باشد. انتقال جنین یکی از مراحل اصلی در لقاح مصنوعی است. لانه گزینی نتیجه تعامل بین جنین و اندومتر رحم است. شرایط محیطی اندومتر رحم می تواند لانه گزینی جنین را تسهیل کند و یا مانع لانه گزینی جنین شود. پلی مورفیسم های ژنتیکی می توانند نقش مهمی در لانه گزینی جنین داشته باشند. ژن سرکوب گر توموری نقش مهمی در حفاظت سلول ها از جهش های ژنومی دارد پلی مورفیسم های ژن P53 ممکن است در لقاح مصنوعی و انتقال جنینی هم نقش داشته باشد. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط پلی مورفیسم کدون های ۷۲ و ۲۴۹ با نتایج لقاح مصنوعی و انتقال جنینی در جمعیتی از زنان استان گیلان بود در این مطالعه ۵۰ نمونه خون از زنان نابارور تحت درمان IVF و ۵۰ داوطلب سالم تهیه شد. DNA زنومی از لکوسیت های خون محیطی استخراج و سپس روش AS-PCR برای تعیین ژنوتیپ های پلی مورفیسم کدون ۷۲ و ۲۴۹ مورد استفاده قرار گرفت. تفاوت معنی داری بین کدون ۷۲ و زنان بیمار و کنترل مشاهده نشد ($P=0.244$). در حالیکه، توزیع ژنوتیپی در کدون ۲۴۹ در زنان بیمار و سالم متفاوت بود ($P=0.0009$). بنابر نتایج این مطالعه، کدون ۷۲ P53 ارتباطی با میزان موفقیت لقاح مصنوعی و انتقال جنین ندارد. اگرچه کدون ۲۴۹ P53 با موفقیت لقاح مصنوعی و انتقال جنین در جمعیت مطالعه شده مرتبط است

کلمات کلیدی: TP53، پلی مورفیسم های ژنتیکی، لقاح مصنوعی و انتقال جنین

Abstract

Infertility is a disease of the reproductive system defined by the failure to achieve a clinical pregnancy after 12 months or more of regular unprotected sexual intercourse. Of all couples classified as infertile, female infertility accounts for about 40-50%, In 30-40 infertile couples, male infertility is the cause, while the remaining 10-30% either is attributed to both male and female infertility or is unexplained. In Vitro Fertilisation (IVF) is the most successful of the infertility treatments. Embryo transfer is a major step for In Vitro Fertilisation. Embryo Implantation is the result of interaction of the embryo with the endometrium. It is also very plausible that the microenvironmental condition of the endometrium could facilitate or impair embryo implantation. Genetic polymorphisms, may play an important role in embryo implantation. The tumor suppressor gene p53 is crucial for defence against genomic mutations. Polymorphisms in p53 gene may play in, In Vitro Fertilisation and embryo transfer. The aim of this study was to investigate association of the p53 codons 72 and 249 polymorphism with IVF-ET outcome in a population of Guilan province. blood samples were collected from 50 infertile women underwent an IVF cycle and 50 healthy volunteers. Genomic DNA was prepared from peripheral blood leukocytes. AS-PCR method was applied for determination of codons 72 and 249 polymorphism genotypes. No significant difference of the frequency genotypes at codon 72 was observed between infertile women and healthy controls ($P=0.244$). While, the distribution of genotypes at codon 249 in patients and controls were different ($P=0/0009$). In Conclusion, the result of this study suggest that P72R Polymorphism of the P53 gene is unlikely to contribute to the IVF-ET outcome; However, R249S may be associated with IVF-ET outcome.

Key words: TP53, Genetic polymorphism, IVF-ET

۱-مقدمه

حدود ۱۵ درصد از زوجین، با مشکل ناباروری مواجه هستند ناباروری، ناتوانی یک زوج در باردار شدن پس از یکسال مقاربت منظم (در زنان زیر ۳۵سال) بدون جلوگیری از بارداری تعریف شده است (Mosher, 1991). ناباروری، باعث ایجاد مشکلات متعدد در سلامت روانی، اعتمادبه نفس و روابط زوجین می شود. مطالعات نشان داده اند که ناباروری برای زنان، نسبت به مردان استرس بیشتری به همراه دارد و این موضوع موجب کاهش اعتماد به نفس و افزایش افسردگی در زنان می شود. حدود ۶۰ تا ۸۰ میلیون (۱۰ تا ۱۵ درصد) زوج ها در سر تاسر جهان با فرم هایی از ناباروری مواجه هستند. علل ناباروری می تواند مربوط به زن، مرد و یا هر دوی آنها باشد (Baird et al., 2002). حدود ۴۰ تا ۵۰ درصد از مشکلات ناباروری مربوط به زنان، ۳۰ تا ۴۰ درصد مربوط به مردان و در ۱۰ تا ۳۰ درصد هم، علت ناباروری مربوط به هر دو و یا نامشخص است. در معرض سموم قرار گرفتن، سوء تغذیه و علل ناشناخته از دلایل ناباروری زنان و مردان محسوب می شوند.

۱-۱- ناباروری در زنان

در حدود نیمی از مشکلات ناباروری مربوط به زنان می باشد. باروری زنان توسط بعضی بیماریها، مسدود شدن مجاری دستگاه تناسلی و اختلال در سیستم اندوکرینی و ایمنی تحت تاثیر قرار می گیرد (Templeton et al., 1998). رژیم های غذایی و شیوه زندگی فرد (عوامل محیطی) و عوامل ژنتیکی نیز در ناباروری مهم می باشند.

۱-۱-۱- علل جسمی ناباروری در زنان

۱-۱-۱-۱- اندومتریوز

اندومتریوز (در ابتدا آدنومیوما نامیده می شد) ۱۵۰ سال پیش توسط Rokitansky تعریف شد. در اندومتریوز، قطعات اندومتری در اثر برگشت خون قاعدگی به وسیله لوله ها در نواحی غیر معمول مثل صفاق لگنی، پشت رحم و در سطح تخمدان ها اتفاق می افتد، دیده می شود (Benagiono and Brosens, 1991). اندومتر رحم در هنگام قاعدگی، ریزش می کند و پس از آن دوباره رشد می کنند. این سلول ها قدرت رشد در نقاط دیگر را هم دارند (Ozkan et al., 2008; Seli et al.,)

2003). از مهمترین نشانه های اندومتریوز در زنان، درد و ناباروری است. مکانیسم این نشانه ها در اندومتریوز هنوز شناخته نشده اند.

۱-۱-۲- سندرم پلی کیستیک تخمدانی

سندرم پلی کیستیک تخمدانی (PCOS)، از معمول ترین بیماری های اندوکرینی [تغییرات هورمونهای استروژن^۱، پروژسترون^۲ و اندروژن^۳ (هورمونی مردانه که به مقدار کم در زنان وجود دارد)] در زنان در سن تولید مثل است. در این بیماری، کیست های کوچک پر از مایع در داخل تخمدان ها ایجاد می شود و در نتیجه باعث اختلالاتی در تخمک گذاری زنان مبتلا شده و خطر ابتلا به انواع بیماری های تولید مثلی مانند ناباروری، سرطان اندومتر و مشکلات بارداری و همچنین ابتلا به انواع بیماری های متابولیکی مانند چاقی، دیابت نوع ۲، افزایش فشار خون، بی نظمی در قاعدگی و بیماری های قلبی عروقی را افزایش می دهد (Hacker Neville et al., 2012).

۱-۱-۳- اختلالات لوله رحمی

یکی از معمول ترین موارد در ناباروری زنان، اختلالات لوله های فالوپ می باشد. لوله های فالوپ، لوله های رحمی هستند که از طریق آنها، تخمک رها شده از تخمدان وارد رحم می شوند. گاهی این لوله ها باریک می شود و مانع لقاح اسپرم و تخمک می شوند. مسدود شدن لوله های رحمی می تواند علت های مختلفی داشته باشد مانند جراحی های شکمی، اندومتریوز، عفونت، پولیپ، حاملگی خارج رحمی و التهابات شدید (Diamond et al., 1995).

۱-۱-۴- عفونت و بیماری های شکمی^۴

میکروارگانیزم ها از طریق دهانه رحم و غشاء مخاطی گردن رحم به اندومتر رحم و لوله های فالوپ منتقل می شوند. آسیب به لوله های فالوپ، منجر به ناباروری و حاملگی خارج رحمی و درد های شدید در ناحیه شکمی می شود (Healy et al., 1994).

۱-۱-۵- یائسگی زود رس^۵

سن طبیعی یائسگی در زنان، ۵۱ سالگی است. در حدود ۳-۱ درصد زنان قبل از ۴۰ سالگی و حدود ۵ درصد قبل از ۴۵ سالگی، یائسگی را تجربه می کنند که هر دو رده سنی، کمتر از متوسط میزان سن یائسگی است. عواملی مانند اثرات شیمی

¹-Estrogen

²-Progesteron

³-Androgen

⁴-Pelvic inflammatory disease (PID)

⁵- Pre mature Menopause

درمانی و جراحی های داخلی از عوامل تحریک کننده یائسگی زودرس می باشند. یائسگی زودرس یک نوع اختلالات تخمدانی می باشد که باعث بر هم زدن نظم محور هیپوتالاموسی-هیپوفیزی می شود. و لذا تغییر در میزان گنادوتروپین و اختلال در تولید فولیکول در این بیماری مشاهده می شود (Rossouw et al., 2007).

۱-۱-۶- اختلالات تخمک گذاری و هورمونی

الیگومنوره^۱ از اولین نشانه های اختلالات در تخمک گذاری است. در مواردی که قاعدگی صورت نمی گیرد^۲، شانس باردار شدن بدون درمان بسیار پائین است. اکثر زنانی که این مشکل را دارند، از کمبود جسم زرد (غده ترشح کننده پروژسترون) و نداشتن تخمک رنج می برند (Hinney et al., 1996). این اختلالات، با اندازه گیری میزان هورمون های (TSH, LH, FSH)، پرولاکتین، استرادیول و تستوسترون) خون افراد شناسایی می شود (Weise et al., 1989). از آنجائیکه تخمک گذاری وابسته به برهمکنش بین هورمون ها است، هر گونه اختلال در برهمکنش هورمون ها سبب اختلالات در تخمک گذاری می شود. میزان بالای هورمون FSH و LH در سرم بیماران نشان دهنده میزان پائین اووسیت یا میزان زیاد آن است، که پیش از این تحلیل رفته اند (Moltz et al., 1990).

۱-۲-۲- عوامل محیطی

خستگی و اضطراب یکی از مهمترین دلایل محیطی موثر در ناباروری است (Hruska et al., 2000). توکسین ها مانند چسب، حلال های شیمیایی سبک و فرآر، عوامل فیزیکی، مواد شیمیایی و آفت کش ها در نازایی نقش دارند (Mendiola et al., 2008). در شغل هایی که شخص در معرض هیدرو کربن های کلریده و بخار های سمی قرار دارد، احتمال سقط جنین بسیار زیاد است (Hruska et al., 2000).

۱-۲-۱- سن

بهترین سن باروری برای زنان بین ۱۸ تا ۲۴ سالگی است (Agboola, 2004). با افزایش سن (بعد از ۲۷ تا ۳۵ سالگی)، شانس بارور شدن کاهش می یابد. در یک زن سالم، اندوخته تخمکی در سن ۳۰ سالگی، ۱۲٪ و در سن ۴۰ سالگی، ۴٪ است. به احتمال ۸۱٪، سن، عامل تغییرات اندوخته های تخمکی می باشد. سن، از فاکتورهای مهم در ناباروری زنان است. اختلالات تخمدانی در زنانی که سن بیشتری دارند معمول تر است (Miller, 1992).

۱-۲-۲- وزن

^۱ -Oligomenorrhea

^۲ - Amenorrhea

افزایش و یا کاهش وزن منجر به اختلالات تخمدانی می شود (Imani *et al.*, 1998). اضافه وزن در نتایج تکنیک های کمک باروری^۱ تاثیر دارد (Freundi *et al.*, 2003). چاقی در زنان منجر به افزایش خطر سقط جنین خودبه خودی و دیابت بارداری و فشار خون در زمان بارداری می شود. همچنین چاقی منجر به قاعدگی های نامنظم در چرخه تخمدانی می شود (Adams *et al.*, 1986). بنابراین تغذیه مناسب از ابتدا، فاکتور مهمی در باروری شناخته می شود (Bernal *et al.*, 2010).

۱-۲-۳-۲- شیوه زندگی و عادات فردی

شیوه زندگی و عادات فردی، بر باروری فرد تاثیر می گذارد (Hakim *et al.*, 1998). سیگار کشیدن و مصرف الکل از عوامل موثر در ناباروری می باشند. مصرف سیگار (نیکوتین و مواد شیمیایی مضر سیگار)، ممکن است مانع، ساختن فولیکول در تخمدان شده و بر انتقال جنین، پذیرش اندومتری، رشد رگ های خونی اندومتر، گردش خون در اندومتر و عضلات صاف رحم تاثیر می گذارد. بعضی از این آسیب ها، برگشت ناپذیر هستند ولی ترک سیگار از آسیب های بیشتر جلوگیری می کند. احتمال ناباروری در افراد سیگاری، ۶۰٪ نسبت به افراد غیر سیگاری بیشتر است. مصرف سیگار شانس موفقیت IVF را تا ۳۴٪ کاهش می دهد و خطر سقط جنین را تا ۳۰٪ افزایش می دهد. مصرف مواد مخدر، مانند ماری جوانا با تخریب سیستم اندوکائابینوئید^۲ باعث ناباروری می شود. از طرفی دیگر مصرف الکل، با بالا بردن میزان استروژن، موجب کاهش ترشح FSH می شود. در این حالت، سنتز فولیکول متوقف شده و منجر به عدم تخمک گذاری می شود (Mendelson *et al.*, 1989).

۱-۲-۱- ناباروری در مردان

مواردی که در باروری مردان نقش مهمی دارند شامل: اسپرماتوژنز طبیعی، بلوغ کامل اسپرم در طی گذر از اندام های تولید مثلی، تولید میزان کافی مایع سمینالی، توانایی ذخیره شدن در محیط رحمی و داشتن تحرک کافی اسپرم برای رسیدن و نفوذ به لوله های رحمی است. حدود ۳۰ تا ۴۰ درصد از کل موارد ناباروری مربوط به مردان است (Mosher *et al.*, 1991). شناسایی فاکتور های مردان نسبت به زنان راحت تر صورت می گیرد (Corfman and Ball, 1994). به همین دلیل در روش های درمانی ناباروری، ابتدا مردان مورد بررسی قرار می گیرند (Horwards, 1995).

۱-۲-۱- علل غیر ژنتیکی

^۱ - Assisted Reproductive Technique (ART)

^۲ - Endocannabinoid system

۱-۲-۱-۱- واریکوسل^۱

واریکوسل یا واریس بیضه، رایج ترین علت ناباروری در مردان است که در آن، سیاهرگ های بیضه‌ای در طناب اسپرماتیک متورم می شود. در افراد مبتلا به واریکوسل، ناهنجاری های مایع منی، کوچک شدن بیضه و کاهش جریان خون که منجر به کاهش اکسیژن می شود می تواند موجب کاهش فرآیند اسپرماتوزنز و ناباروری گردد (Gat et al., 2005).

۱-۲-۱-۲- آنتی بادی های ضد اسپرمی^۲

نقش فاکتور های ایمنی در ناباروری مردان، اولین بار توسط Wilson و Rumke در سال ۱۹۵۴ شناسایی شد. آنتی بادی های ضد اسپرمی به آنتی ژن های اسپرمی متصل شده و باعث چسبیدن آنها به یکدیگر می شود و در نتیجه مانع لقاح اسپرم و اووسیت می شود. آنتی بادی های ضد اسپرمی معمولاً در سطح اسپرم، سرم و مایع اسپرمی وجود دارد (Turek, 2008).

۱-۲-۱-۳- هیپو گنادیسم هیپوتروفیک^۳

به طور طبیعی هیپوتالاموس هورمون آزاد کننده گنادوتروپین را آزاد می کند و این هورمون با اثر بر غده هیپوفیز باعث ترشح هورمون محرک فولیکولی (FSH) و هورمون لوتئینی (LH) می گردد. این هورمون ها در نهایت منجر به اسپرماتوزنز می شوند (Cadman et al., 2007). هر گونه اختلال در محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد ها منجر به کاهش ترشح هورمون های FSH و LH شده و در نتیجه اسپرماتوزنز صورت نمی گیرد (Trarbach et al., 2007).

۱-۲-۲-۱- علل ژنتیکی

۱-۲-۲-۱- اختلالات کروموزومی

ناهنجاری های عددی و ساختاری کروموزومی با آنالیزهای کاریوتیپی شناسایی می شوند (Foresta et al., 2005). موارد آرواسپرمی (عدم حضور اسپرم در مایع منی) و الیگو اسپرمی (کاهش تعداد اسپرم مایع منی) هم با استفاده از این آنالیز قابل شناسایی است (Tuttelmann et al., 2009). در ۱۰ تا ۱۵ درصد مردان نابارور، ناهنجاری های کروموزومی دیده می شود (Van et al., 1996).

۱-۲-۲-۱- سندرم کلاین فلتر

¹ -Varicocele

² - Antisperm antibodies(ASA)

³ -Hypogonadotrophic Hypogonadism