بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده علوم پایه

گروه زیست شناسی

پایان نامه کارشناسی ارشد

گرایش ژنتیک

عنوان:

بررسی پلی‌مورفیسم ژن Estrogen Receptor با ناباروری زنان در استان گیلان

از :

شیدا جدیری زایر

استاد راهنما:

دکترحمید رضا وزیری

استاد مشاور:

دکتر زیبا ظهیری

شهریور ۱۳۹۳

تقدیم به

پدر و مادر مهربانم،

با بوسه بر دستان پر مهرشان

به پاس محبت های بی دریغشان که هرگز فروکش نمی کند

تقدیم و تشکر

یزدان پاک را سپاس می گویم که مرا در به انجام رساندن این پژوهش یاری نمود و هر چه دارم از اوست.

از استاد فاضل و اندیشمند، جناب آقای دکتر حمیدرضا وزیری که باحسن خلق و در کمال سعه صدر، با توصیه ها و نظرات ارزشمند خویش در تکمیل این پایان نامه یاری ام نمودند و راهنمایی این پایان نامه را به عهده گرفتند، صمیمانه قدردانی می نمایم. از استاد محترم، سرکار خانم دکتر زیبا ظهیری، که زحمت مشاوره این پایان نامه را متقبل شدند، سپاسگزارم. از اساتید گرامی، سرکار خانم دکتر ریحانه سرپری مدیریت محترم گروه زیست شناسی و جناب آقای دکتر حسنی که زحمت داوری پایان نامه ام را برعهده گرفتند و همچنین از جناب آقای دکتر بهروز حیدری نماینده ی محترم تحصیلات تکمیلی در جلسه دفاع کمال تشکر را دارم.

از پدر و مادر دلسوز و فداکارم که در تمام مراحل زندگی، دوران تحصیل و اتمام پایان نامه ام همراهی مهربان و تکیه گاهی مطمئن برایم بوده اند، بسیار سپاسگزارم. از دوستان بسیار عزیزم که ایجانب را در انجام این پژوهش یاری نمودند، تقدیر و تشکر می کنم و توفیق روز افزونشان را از خداوند متعال خواهانم.

شیدا جدیری زایر

شهریور ۹۳

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

چکیده فارسی.....ذ

چکیده انگلیسی.....ر

فصل اول: مقدمه

۱- مقدمه.....۲

۱-۱- تعریف ناباروری.....۲

۱-۲- شیوع ناباروری.....۲

۱-۳- سبب شناسی ناباروری در زنان.....۲

۱-۴- علل ناباروری زنان.....۳

۱-۴-۱- علل غیرژنتیکی.....۳

۱-۴-۱-۱- سن.....۳

۱-۴-۱-۲- وزن.....۴

۱-۴-۱-۳- عادات رفتاری.....۴

۱-۴-۱-۳-۱- رزیم غذایی.....۴

۱-۴-۱-۳-۲- مصرف سیگار.....۵

۱-۴-۱-۳-۳- مصرف الکل.....۵

۱-۴-۱-۳-۴- کافئین.....۵

۱-۴-۱-۴- استرس.....۶

۱-۴-۱-۵- آلودگی محیط.....۶

۱-۴-۱-۶- علل مختل کننده تخمک گذاری.....۶

۱-۴-۱-۶-۱- هیپو گنادوتروفیک هیپوگنادیسم (HH).....۶

۱-۴-۱-۶-۲- نورموگنادوتروفیک نورمواستروژنیک.....۷

۱-۴-۱-۶-۲-۱- سندرم تخمدان پلی کیستیک (PCOS)..... ۷
۱-۴-۱-۶-۳- هایپرگنادوتروفیک هیپواستروژنیک..... ۸
۱-۴-۱-۶-۳-۱- یائسگی زودرس تخمدان (POF)..... ۸
۱-۴-۱-۶-۴- هیپرپرولاکتینمیا..... ۸
۱-۴-۱-۷- ناهنجاری های رحمی..... ۹
۱-۴-۱-۷-۱- اندومتریوز..... ۹
۱-۴-۱-۷-۲- فیبروئید..... ۹
۱-۴-۱-۸ لوله‌های رحمی..... ۱۰
۱-۵- روش های تشخیص ناباروری زنان..... ۱۰
۱-۶- درمان نابـاروری زنـان..... ۱۰
۱-۷- علل ژنتیکی ناباروری زنان..... ۱۱
۱-۷-۱- اختلالات کروموزوم X..... ۱۱
۱-۷-۱-۱- سندرم ترنر..... ۱۱
۱-۷-۲- آسیب های تک ژنی..... ۱۱
۱-۷-۳- اختلالات چند عاملی..... ۱۲
۱-۸- پلی مورفیسم..... ۱۲
۱-۸-۱- تعریف پلی مورفیسم ژنتیکی..... ۱۲
۱-۸-۲- جهش های ژنی..... ۱۲
۱-۸-۳- Single Nucleotide Polymorphism..... ۱۳
۱-۸-۴- ارتباط بین پلی‌مورفیسم و استعداد ابتلا به بیماری‌ها ۱۳
۱-۹- ژن ESR 1..... ۱۳
۱-۹-۱- پروموتر ژن ESR1..... ۱۴
۱-۹-۲- پروموتر ژن ESR1 در سایر گونه ها..... ۱۵
۱-۱۰- گیرنده استروژن آلفا..... ۱۷

۱-۱۰-۱- پروتئین ERα محصول ژن ESR1 ۱۷
۱-۱۰-۲- دمین های عملکردی و ساختاری ERα ۱۸
۱-۱۱- استروژن به عنوان لیگاند ESR1 ۱۹
۱-۱۲- مکانیسم سیگنالینگ گیرنده استروژن ۲۱
۱-۱۲-۱- مکانیسم ژنومیک ۲۱
۱-۱۲-۱-۱- مکانیسم کلاسیک ۲۱
۱-۱۲-۱-۲- مکانیسم غیر کلاسیک ۲۲
۱-۱۲-۲- مکانیسم غیر ژنومی غیر وابسته به ERE ۲۳
۱-۱۲-۲-۱- فعالیت غیر ژنومی استروژن‌ها ۲۴
۱-۱۳- پلی‌مورفیسم‌های شایع ESR1 ۲۴
۱-۱۴- هدف از تحقیق ۲۶

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۲- مواد و روش‌ها ۲۸
۲-۱- مواد و لوازم مورد نیاز ۲۸
۲-۱-۱- مواد و لوازم مورد نیاز جهت نمونه گیری ۲۸
۲-۱-۲- مواد و وسایل مور نیاز جهت استخراج DNA از لوکوسیت های خون محیطی ۲۸
۲-۱-۳- مواد و لوازم مورد نیاز در الکتروفورز ژل آگارز جهت ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده ۲۹
۲-۱-۴- مواد و لوازم مورد نیاز جهت انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (Polymerase Chain Reaction=PCR) ۲۹
۲-۱-۵- مواد و لوازم مورد نیاز در الکتروفورز محصولات PCR به کمک ژل آگارز ۳۰
۲-۱-۶- آماده سازی بافرها و محلول‌ها ۳۰
۲-۱-۶-۱- بافر TBE با غلظت 10X (10X TBE) ۳۰
۲-۱-۶-۲- بافر TBE با غلظت 1X (1X TBE) ۳۱
۲-۲- لیست تجهیزات مصـرفی در آزمایشـگاه ۳۱

۲-۳- روش کار ۳۲
۲-۳-۱- نمونه گیری ۳۲
۲-۳-۲- استخراج DNA ژنومی از لکوسیت‌های خون محیطی ۳۲
۲-۳-۳- ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده به کمک ژل آگارز (الکتروفورز افقی) ۳۳
۲-۳-۴- انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) ۳۵
۲-۳-۴-۱- استفاده از تکنیک Allele-Specific PCR جهت تشخیص پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی در ژن ESR1 ۳۵
۲-۳-۴-۱-۱- استفاده از تکنیک PCR ۳۵
۲-۳-۴-۱-۲- آغازگرهای مورد استفاده ۳۶
۲-۳-۴-۲- بررسی محصولات PCR با استفاده از ژل آگارز ۲٪ (الکتروفورز افقی) ۴۳
۲-۴- آنالیز آماری ۴۴

فصل سوم: نتایج

۳- نتایج ۴۶
۳-۱- خصوصیات نمونه‌ها ۴۶
۳-۲- نتایج بررسی‌های پرسشنامه ها ۴۶
۳-۳- نتایج بررسی کیفیت DNA استخراج شده توسط الکتروفورز افقی روی ژل آگارز ۱٪ ۴۶
۳-۴- نتایج حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) ۴۷
۳-۴-۱- نتایج بررسی قطعات تکثیرشده واکنش PCR پلی‌مورفیسم Arg157Ter ۴۷
۳-۴-۲- نتایج بررسی قطعات تکثیرشده واکنش PCR پلی‌مورفیسم Val364Glu ۴۸
۳-۵- آنالیز آماری پلی‌مورفیسم‌های ژن ESR1 ۴۹
۳-۵-۱- نتایج آنالیز آماری پلی‌مورفیسم Arg157Ter ژن ESR1 ۴۹
۳-۵-۱-۱- بررسی فراوانی آللی پلی‌مورفیسم Arg157Ter ژن ESR1 ۴۹
۳-۵-۱-۲- بررسی فراوانی ژنوتیپی پلی‌مورفیسم Arg157Ter ژن ESR1 ۵۰

۳-۵-۲- نتایج آنالیز آماری پلی‌مورفیسم Val364Glu ژن ESR1 ..... ۵۲
۳-۵-۲-۱- بررسی فراوانی آللی پلی‌مورفیسم Val364Glu ژن ESR1 ..... ۵۲
۳-۵-۲-۲- بررسی فراوانی ژنوتیپی پلی‌مورفیسم Val364Glu ژن ESR1 ..... ۵۳

فصل چهارم: بحث

۴- بحث ۵۵
۴-۱- پیشنهادات ۵۸

فصل پنجم: منابع

منابع ۶۰

پیوست ۶۸

فهرست جدول ها

عنوان **صفحه**

جدول ۱-۱- ارتباط میزان لانه گزینی جنین با سن مادر ۴

جدول ۲-۱- مشخصات مواد مصرفی در PCR ۳۵

جدول ۲-۲- توالی‌های پرایمر به کار رفته در تکثیر ناحیه rs104893956 C/T در ژن ESR1 ..... ۳۶

جدول ۲-۳- توالی‌های پرایمر به کار رفته در تکثیر ناحیه rs121913044 T/A در ژن ESR1 ..... ۳۶

جدول ۲-۴- چرخه حرارتی PCR پلی مورفیسم rs104893956 C/T ۴۱

جدول ۲-۵- چرخه حرارتی PCR پلی مورفیسم rs121913044 T/A ۴۲

جدول ۳-۱- بررسی ژنوتیپ های مشاهده شده پلی مورفیسم Arg157Ter ژن ESR1 و نتیجه آزمون χ^2 ..... ۵۱

فهرست شکل ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱- محل قرارگیری ژن ESR1 روی کروموزوم شماره ۶ ..... ۱۴

شکل ۱-۲- سازمان دهی ژنومی ناحیه پروموتری ژن ESR1 انسانی ۱۵

شکل ۱-۳- دمین های عملکردی ERα به همراه cDNA مربوط به آن ۱۶

شکل ۱-۴- دمین های عملکردی و ساختاری ERα ۱۸

شکل ۱-۵- ساختار پروتئین گیرنده استروژن آلفا..... ۱۹

شکل ۱-۶- سنتز، انتقال و ترشح استروژن ۲۰

شکل ۱-۷- مکانیسم کلاسیک سیگنالینگ گیرنده استروژن آلفا ۲۲

شکل ۱-۸- عملکرد گیرنده استروژن در بدن..... ۲۴

شکل ۱-۹- واریانت های ژنتیکی ERα و محل قرارگیری پلی مورفیسم های شایع ESR1 ..... ۲۵

شکل ۲-۱- انطباق آغازگرهای آلل C ژن ESR1 پلی مورفیسم (Arg157Ter) با نرم افزار Oligo 7 ..... ۳۷

شکل ۲-۲- انطباق آغازگرهای آلل T ژن ESR1 پلی مورفیسم (Arg157Ter) با نرم افزار Oligo 7 ..... ۳۸

شکل ۲-۳- موقعیت پلی مورفیسم rs104893956 (Arg157Ter) حاصل از PCR ژن ESR1..... ۳۸

شکل ۲-۴- انطباق آغازگرهای آلل T ژن ESR1 پلی مورفیسم (Val364Glu) با نرم افزار Oligo 7..... ۳۹

شکل ۲-۵- انطباق آغازگرهای آلل A ژن ESR1 پلی مورفیسم (Val364Glu) با نرم افزارOligo 7 ..... ۴۰

شکل ۲-۶- موقعیت پلی مورفیسم rs121913044(Val364Glu) محصول PCR ژن ESR1 ..... ۴۰

شکل ۲-۷- پروفایل حرارتی واکنش PCR آلل C پلی مورفیسم (Arg157Ter) ژن ESR1..... ۴۲

شکل ۲-۸- پروفایل حرارتی واکنش PCR آلل T پلی مورفیسم (Val364Glu) ژن ESR1..... ۴۳

شکل ۳-۱- تصویر ژل آگارز ۱٪ جهت بررسی DNA ژنومی استخراج شده از خون محیطی..... ۴۷

شکل ۳-۲- محصول PCR قطعات ۳۳۸ و ۲۷۴ جفت بازی روی ژل آگارز ۲٪..... ۴۸

شکل ۳-۳- محصول PCR قطعات ۳۱۳ و ۹۸ جفت بازی روی ژل آگارز ۲٪..... ۴۹

شکل ۳-۴- نمودار درصد فراوانی آللی مشاهده شده پلی مورفیسم Arg157Ter ژن ESR1..... ۵۰

شکل ۳-۵- نمودار درصد فراوانی ژنوتیپ های مشاهده شده پلی مورفیسم Arg157Ter ژن Esr1..... ۵۱

شکل ۳-۶- نمودار درصد فراوانی آللی مشاهده شده پلی مورفیسم Val364Glu ژن ESR1..... ۵۲

شکل ۳-۷- نمودار درصد فراوانی ژنوتیپ های مشاهده شده پلی مورفیسم Val364Glu ژن ESR1..... ۵۳

چکیده

بررسی پلی‌مورفیسم ژن Estrogen Receptor با ناباروری زنان در استان گیلان

شیدا جدیری زایر

ناباروری یک بیماری چند عاملی است که عوامل ژنتیکی و غیر ژنتیکی در بروز آن دخیلند. حدود ۱۵-۱۰٪ از زوجین در جهان نابارورند. بیش از ۴۰٪ از عوامل ناباروری به زنان اختصاص دارد. تغییرات و اختلالات هورمونی از جمله عوامل مهم ناباروری در زنان است. هورمون استروژن، یکی از مهم‌ترین هورمون‌های زنانه است که نقش مهمی در بلوغ اووسیت و باروری ایفا می‌کند. این هورمون در سلول‌های گرانولوزای فولیکولی تخمدان و تحت کنترل محور هیپوفیز-هیپوتالاموس-گناد، سنتز و ترشح می-شود. فعالیت حیاتی این هورمون در بافت هدف از طریق اتصال به گیرنده‌های استروژن انجام می‌شود، از این‌رو انتظار داریم هر گونه تغییر در ژن استروژن یا ژن گیرنده آن که موجب تغییر در محصول پروتئینی گردد در باروری نیز موثر باشد. گیرنده استروژن الفا یکی از ایزوفرم‌های گیرنده استروژن است که توسط ژن Estrogen Receptor 1 کد می‌شود. این ژن به طول ۱۴۰kb، روی بازوی بلند کروموزوم شماره ۶ واقع شده و ۸ اگزون دارد. انواع مختلفی از پلی‌مورفیسم ژن گیرنده استروژن، در رابطه با وضعیت‌های متعدد پاتولوژیک شناسایی شده است. در این مطالعه به بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم Val364Glu و Arg157Ter ژن ESR1 با استعداد ابتلا به ناباروری زنان پرداخته شده است. بدین منظور از ۷۰ زن نابارور و ۶۵ زن سالم (به عنوان کنترل) نمونه خون تهیه شد. جهت تعیین ژنوتیپ‌های هر دو ناحیه پلی‌مورف، روش Allele Specific-PCR مورد استفاده قرار گرفت. آنالیز آماری با نرم‌فزار MedCalc(varsion 12.1) انجام شد. در پلی‌مورفیسم Arg157Ter ، فراوانی ژنوتیپ‌های TT، TCو CC در گروه کنترل، به ترتیب ۰٪، ۹۳/۸۴٪ و ۶/۱۵٪ و در گروه بیمار به ترتیب ۲۰٪، ۸۰٪و ۰٪بود (P=۰/۰۰۰۱). در پلی‌مورفیسم Val364Glu فراوانی ژنوتیپ‌های AA، ATو TT در گروه کنترل، به ترتیب ۰٪، ۹۵/۳۸٪و ۴/۶۱٪ و در گروه بیمار به ترتیب ۲/۸۵٪، ۹۷/۱۴٪ و ۰٪ بود(P=۰/۰۷). نتایج حاکی از اهمیت ژنوتیپ TT پلی-مورفیسم ESR1 Arg157Ter در ناباروری زنان می‌باشد. اگرچه، نتایج ممکن است با تغییر خزانه ژنتیکی و اندازه جمعیت مورد بررسی تغییر نماید.

کلمات کلیدی: ناباروری زنان، استروژن، گیرنده استروژن آلفا، پلی‌مورفیسم ژنی

فصل اول:

مقدمه

Introduction

۱-مقدمه

۱-۱- تعریف ناباروری

ناباروری[1] از علل مختل کننده سلامت تولید مثل می‌باشد که منجر به آسیب‌های روانی و عاطفی در زوجین شده و زندگی آنان را تحت‌الشعاع قرار می‌دهد (Seshagiri, 2001). ناباروری به ناتوانی زوجین در باروری پس از گذشت یک‌سال از مقاربت‌های منظم و بدون استفاده از روش‌های پیشگیری از بارداری اطلاق می‌شود (Guy, 2009).

۱-۲-شیوع ناباروری

آمار سازمان بهداشت جهانی (W.H.O)[2] نشان می‌دهد حدود ۱۵٪-۱۰٪ از زوجین در سرتاسر جهان با نوعی از ناباروری مواجه‌اند. علل ناباروری می‌تواند مربوط به زن، مرد یا هردو باشد (Day Baird *et al.*, 2003). حدود ۴۰ تا ۵۰ درصد از مشکلات ناباروری مربوط به زنان، ۳۰ الی ۴۰ درصد مربوط به مردان و ۱۰ الی ۳۰ درصد هم، مربوط به هردو یا به علل نا مشخص است. باتوجه به رشد و توسعه جوامع بشری و استفاده روزافزون از مواد شیمیایی مضر و همچنین با در نظر گرفتن تغییر الگوی زندگی و عادات فردی، این احتمال وجود دارد که در سال‌های آینده میزان ناباروری رو به افزایش رود (Collins *et al.*, 1995).

۱-۳-سبب‌شناسی[3] ناباروری در زنان

ناباروری به دو صورت اولیه[4] و ثانویه[5] تقسیم می‌گردد. ناباروری اولیه عدم توانایی در باردار شدن به مدت یک‌سال به رغم تلاش برای بارداری تعریف شده است. در حالی‌که ناباروری ثانویه به ناتوانی آن دسته از زنان اشاره دارد که قبلا تجربه بارداری موفق را داشته‌اند (Poongothai *et al.*, 2009).

[1] Infertility
[2] World Health Organization
[3] Etiology
[4] Primary
[5] Secondary

معمول‌ترین حالت ناباروری، مربوط به اختلال در تخمک‌گذاری[1] یا عدم تخمک‌گذاری، بیماری‌های مربوط به لوله‌های تولیدمثلی، اندومتریوز[2] و بیماری‌های لگنی یا رحمی می‌باشد. نادرترین حالت ناباروری مربوط به عوامل ایمونولوژیکی و نقایص ژنتیکی است. استعمال دخانیات نیز می‌تواند موجب کاهش توانایی باروری گردد (Stillman *et al.*, 1986).

در ۲۰٪-۱۰٪ زوجین هیچ دلیلی برای ناباروری یافت نشده و تحت عنوان ناباروری ایدیوپاتیک نامیده می‌شوند. این نوع ناباروری ناتوانی نسبی در باروری می‌باشد و بسیاری از زوجین ممکن است بدون درمان بارور شوند؛ اگرچه درمان می‌تواند حاملگی را تسریع کند (Fisch *et al.*, 1989).

۱-۴-علل ناباروری زنان

ناباروری در زنان، یک سندروم چند عاملی[3] است، از این‌رو علل ژنتیکی و غیرژنتیکی متعددی می‌تواند در ابتلای افراد به این بیماری نقش داشته باشد.

۱-۴-۱- علل غیرژنتیکی

۱-۴-۱-۱- سن

سن از فاکتورهای مهم در ناباروری زنان است. اختلالات تخمدانی در زنانی که سن بیشتری دارند، معمول‌تر است . مطالعات نشان می‌دهد نقص در کروماتیدهای خواهری که در نهایت منجر به آنیوپلوئیدی[4] می‌شود، به علت بالا رفتن سن تخمک‌ها در زنان مسن‌تر است (Homer, 2011). سن بالا با کاهش باروری در زنان و ناهنجاری‌های اووسیت ارتباط دارد. دوک‌های میتوزی که برای شکل‌گیری و نظم میکروتوبول‌ها در اووسیت دارای اهمیت است، با افزایش سن دچار ناهنجاری می‌شود (Battaglia DE, 1996). آمارها نشان می‌دهد بهترین سن باروری برای زنان، بین ۱۸ تا ۲۴ سالگی است. در جدول ۱-۱ ارتباط میزان لانه‌گزینی جنین با سن مادر آورده شده است.

[1] Ovulation
[2] Endometriosis
[3] Multifactorial Syndrome
[4] Aneuploidy

جدول(۱-۱): ارتباط میزان لانه گزینی جنین با سن مادر(Medicine, 2006)

Age	Implantation Rate
25-29	18.2%
30-34	16.1%
35-39	15.3%
40-44	6.1%

۱-۴-۱-۲- وزن

طبق تعریف سازمان بهداشت جهانی، افراد با شاخص توده بدنی(BMI)[1] بالای ۳۰ کیلوگرم بر متر مربع چاق درنظر گرفته می‌شوند. مطالعات نشان می‌دهد احتمال حاملگی در زنانی که توده بدنی (BMI) آنها بیشتر از ۳۰ کیلوگرم بر متر مربع باشد، کاهش می‌یابد (van der Steeg *et al.*, 2008). چاقی معمولا بانامنظم شدن سیکل قاعدگی مرتبط بوده و ۳۰ الی ۴۷٪ از زنان چاق دچار اختلالات قاعدگی و گاهی ناباروری می‌شوند (Castillo-Martínez *et al.*, 2003). همچنین مطالعات نشانگر ارتباط منفی بین افزایش در میزان شاخص توده بدنی و لانه‌گزینی[2] است (Bellver *et al.*, 2007). نتایج نشان می‌دهد که افزایش وزن با کاهش کیفیت و بلوغ نامناسب تخمک‌ها در ارتباط است (Esinler *et al.*, 2008). از این‌رو افزایش در میزان سقط و ختم زودهنگام بارداری در زنان با وزن بالا را می‌توان به کاهش کیفیت تخمک‌ها نسبت داد (Robker, 2008). کاهش وزن غیرمعمول نیز منجر به اختلالات تخمدانی می‌شود . شانس ناباروری در زنان با شاخص توده بدنی کمتر از ۱۷ بسیار بالاست. اگر میزان چربی بدن فرد، کمتر از ۱۰٪ باشد، تخمدان‌ها بدرستی عملکرد نداشته و فرایند تخمک‌گذاری تحت تاثیر قرار می‌گیرد (Grodstein *et al.*, 1994).

۱-۴-۱-۳-عادات رفتاری

۱-۴-۱-۳-۱-رژیم غذایی

قدرت باروری زنان نیازمند رژیم غذایی مناسب است. استفاده از چربی‌های ترانس به جای چربی‌های اشباع‌شده به شدت خطر ناباروری تخمک‌ها را افزایش داده و مصرف چربی‌های ترانس به جای کربوهیدرات‌ها ۷۳٪ خطر ابتلا به اختلالات تخمک‌گذاری را بالا می‌برد (Chavarro *et al.*, 2008). در عوض استفاده از پروتئین‌ها اثر محافظتی دارد (Chavarro *et al.*, 2008).

[1] Body Mass Index
[2] Implantation

۱-۴-۱-۳-۲-مصرف سیگار

مطالعات نشان می‌دهد کشیدن سیگار اثرات منفی بر جنبه های مختلف باروری دارد. نیکوتین و سایر مواد شیمیایی مضر سیگار، از تولید استروژن، جلوگیری کرده و همچنین مانع تولید فولیکول، انتقال جنین به رحم و رگ‌زایی[1] اندومتر رحم می‌گردد (Dechanet *et al.*, 2011). عقیده بر این است که کاهش نرخ باروری در زنان سیگاری، ناشی از کم شدن ذخایر تخمدانی است (Sharma *et al.*, 2013). افزایش میزان FSH[2] ادراری و کاهش چشمگیر در فاز لوتئال[3] و میزان پروژسترون[4] در زنان سیگاری مشاهده شده است (Windham *et al.*, 2005). در زنان سیگاری برخی از مواد مضر سیگار در مایع فولیکولی نیز وجود داشته و این مواد موجب اختلال در رشد و نمو فولیکول می‌گردد . مواد شیمیایی سیگار موجب اختلال در عبور جنین از لوله فالوپ و افزایش احتمال بارداری خارج رحمی، ناباروری و همچنین نقص در بلوغ اووسیت می-گردد (Talbot and Riveles, 2005). ضخیم شدن ناحیه شفاف اووسیت که نفوذ اسپرم به اووسیت را مشکل می‌کند، در زنان سیگاری بیشتر است.

۱-۴-۱-۳-۳-مصرف الکل

الکل به عنوان یک ماده تراتوژن[5] (هر عاملی که سبب ایجاد و یا افزایش میزان وقوع بدشکلی‌های مادرزادی در جنین شود) شناخته می‌شود و مصرف آن موجب کاهش باروری می‌گردد. فقدان تخمک‌گذاری، اختلال در فاز لوتئال و تکامل غیرمعمول بلاستوسیت‌ها (Gill, 2000)، کاهش میزان لانه‌گزینی (Rasch, 2003) و تاخیر در باروری (Mutsaerts *et al.*, 2012) نیز از اثرات مصرف الکل محسوب می‌شود.

۱-۴-۱-۳-۴-کافئین

مطالعات نشان می‌دهد احتمال سقط خودبخودی[6] جنین و اختلال رشد و نمو جنین در افراد با مصرف بالاتر از ۵۰ میلی‌گرم کافئین در روز بیشتر است (Weng *et al.*, 2008).

[1] Angiogenesis
[2] Follicle Stimulating Hormone
[3] Luteal phase
[4] Progestrone
[5] Teratogene
[6] Spontaneous abortions

۱-۴-۱-۴-استرس

استرس به عنوان یکی از مهمترین علل ناباروری محسوب می‌شود . ارتباط بین استرس‌های فیزیولوژیک و فعالیت دستگاه اعصاب سمپاتیک و محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد[1] کاملا مشهود است.

۱-۴-۱-۵-آلودگی محیط

ازمهمترین عوامل آلودگی محیط، وجود فلزات سنگین در آب و هوای شهرهای صنعتی است. از آن جمله سرب یکی از مهمترین مواد آلوده‌کننده است که می‌تواند موجب ایجاد وقفه در عملکرد محور هیپوتالاموس-هیپوفیز، بی‌نظمی در قاعدگی، سقط خودبخودی و کاهش باروری گردد (Chalupka and Chalupka, 2010).

۱-۴-۱-۶-علل مختل کننده تخمک‌گذاری

اگر سیکل قاعدگی زنان منظم باشد، دلیل بر تخمک‌گذاری مناسب است و در غیر این صورت باید علت بررسی شود. حاملگی نشانه قطعیت وجود تخمک‌گذاری است (Raymond Hang Wun Li MBBS, 2013). اختلالات تخمک‌گذاری بر اساس طبقه‌بندی WHO بدین‌ترتیب است:

۱-هیپوگنادوتروفیک هیپوگنادیسم

۲- نورموگنادوتروفیک نورمواستروژنیک

۳-هایپرگنادوتروفیک هیپواستروژنیک

۴-هایپرپرولاکتینمیک

۱-۴-۱-۶-۱-هیپوگنادوتروفیک هیپوگنادیسم(HH)[2]

در این افراد سطح سرمی گنادوتروپین‌ها[3] و همچنین سطح سرمی استرادیول[4] کم می‌شود که این ناشی از کاهش ترشح هورمون‌های GnRH (هورمون آزادکننده گنادوتروپین) [5]و یا بی‌تفاوتی هیپوفیز در پاسخگویی به GnRH می‌باشد. در این

[1] Hypothalamus-Pituitary-Gonad axis
[2] Hypogonadotropic Hypogonadism
[3] Gonadotrophins
[4] Estradiol
[5] Gonadotropin Releassing Hormone(GnRH)

حالت، فرآیند آغاز بلوغ و یا ابقای آن دچار اختلال می‌گردد. افراد این دسته اغلب آمنوره[1] دارند (ESHRECapriWorkshopGroup, 2006).

۱-۴-۱-۶-۲- نورموگنادوتروفیک نورمواستروژنیک[2]

در این گروه ممکن است ترشح گنادوتروپین‌ها و استروژن طبیعی باشد ولی ترشح FSH طی مرحله فولیکولی چرخه، زیر مقدار طبیعی آن است. زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک در این گروه قرار می‌گیرند (Baird DT, 1977).

۱-۴-۱-۶-۲-۱-سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS)[3]

سندرم تخمدان پلی‌کیستیک شایع‌ترین بیماری غدد درون‌ریز در ۸-۶٪ از زنان در سنین باروری است (Igwegbe, 2013). در حدود ۷۵٪ از علل ناباروری به دلیل عدم تخمک‌گذاری‌ها مربوط به PCOS می‌باشد (Al-Azemi M, 2004). عوارض این بیماری، شامل عدم تخمک‌گذاری (Group, 2004)، فراوانی کیست‌های تخمدانی (Fauser *et al.*, 2012)، ابتلا به دیابت (Teede *et al.*, 2006)، استعداد ابتلا به بیماری‌های قلبی‌عروقی (Norman RJ, 2004) و همچنین کاهش باروری (Dumesic DA, 2008) است. بالا بودن میزان آندروژن، ممکن است سبب ایجاد اختلال در محیط فولیکول و اطراف آن گشته و بلوغ فولیکول را مختل کند (Harris-Glocker and McLaren, 2013). الگوی توارث این بیماری غالب وابسته به x می‌باشد (Tolino A, 2005). پاتوفیزیولوژی این بیماری، چندعاملی است که ممکن است از اثرات چاقی (Fratantonio *et al.*, 2005) و یا اختلالات غدد درون‌ریز و اثر آن بر عملکرد تخمدان باشد (Dumesic DA, 2008). درمان ناباروری حاصل از PCOS در اکثر موارد با انجام تمرین‌های مداوم ورزشی و کاهش وزن، مصرف کلومیفن‌سیترات[4]، متفورمین[5]، گنادوتروپین‌ها و IVF[6] موفقیت‌آمیز می‌باشد (Goodarzi *et al.*, 2011).

[1] Amenorrhea
[2] Normogonadotropic Normoestrogenic
[3] Polycystic Ovarian Syndrome
[4] Clomiphene Citrate
[5] Metphormin
[6] In Vitro Fertilization

۱-۴-۱-۶-۳-هایپرگنادوتروفیک هیپواستروژنیک[1]

این گروه که ۳۰-۱۰٪ از ناباروری به دلیل اختلالات تخمک‌گذاری را شامل می‌شود اغلب بـه علـت نارسـایی زودرس تخمـدان (یائسگی زودرس) و مقاومت تخمدانی می‌باشد. اکثر این زنان آمنوره دارند و به درمان پاسخ نمی‌دهند، همچنـین دارای مقـادیر FSH بالا و استرادیول پایین هستند (Raymond Hang Wun Li MBBS, 2013).

۱-۴-۱-۶-۳-۱-یائسگی زودرس تخمدان (POF)[2]

POF عبارتست از حالتی که تخمدان‌ها تعداد بسیار کمی فولیکول تولید می‌کنند بنابراین دوران قاعدگی در این افراد زودتر از سن طبیعی به اتمام رسیده و وارد مرحله یائسگی می‌شوند (Lee *et al.*, 1999).

عوامل زیادی در POF دخیلند که می‌توان به دو عامل ژنتیـک و محـیط (Snieder *et al.*, 1998)، اخـتلالات خـودایمنی[3]، جراحی لگن و ورزش سنگین (Wilcox and Mosher, 1993) اشاره کرد. مشخصـه‌هـای مهـم POF عبارتسـت از وقـوع آمنوره ثانویه، افزایش گنادوتروپین‌ها و کمبود استروژن در زنان زیر ۴۰ سـال (Svetlana Vujović, 2012). میـزان شـیوع این بیماری در زنان ۲۰ سال،۱ در ۱۰۰۰۰ زن، در زنان ۳۰ سال، ۱ در ۱۰۰۰ زن، و در زنان ۴۰ سال، ۱ در ۱۰۰ زن می‌باشـد (Coulam CB, 1986). POF به کمک دارو و هورمون‌های القا کننده، قابل درمان نیست، زیرا هیچ تخمکـی وجـود نـدارد. تنها گزینه برای این افراد، استفاده از تخمک یا جنین اهدایی است (Wilcox and Mosher, 1993).

۱-۴-۱-۶-۴-هیپرپرولاکتینمیا[4]

پرولاکتین از هورمون‌های غده هیپوفیز است. اساسی‌ترین وظیفه این هورمون تحریک تولید شیر در زنان باردار بـوده و افـزایش آن به غیر از دوران بارداری و شیردهی، طبیعی تلقی نمی‌شود (Blanco-Favela *et al.*, 2012). ترشح مـداوم پـرولاکتین، مانع ترشح GnRH می‌شود و در نتیجه از آزادی گنادوتروپین‌ها ممانعت کـرده و موجـب عـدم تخمـک‌گـذاری شـده و سـبب ناباروری می‌گردد (Kaiser, 2012). در برخی موارد افزایش پرولاکتین موجب قاعدگی‌های نامنظم می‌گردد. گـاهی تخمـک-گذاری، منظم است اما نقص در فاز لوتئال و تولید پروژسترون می‌باشد که این سبب عدم لانه‌گزینی جنینی می‌شود. در برخـی

[1] Hypergonadotropic Hypoestrogenic
[2] Premature Ovarian Failure
[3] Autoimmune Disorders
[4] Hyperprolactinemia