بسم الله الرحمن الرحيم

پردیس بین الملل

گروه زیست شناسی (ژنتیک)

بررسی پلی مورفیسم ژن SEPS1 در مردان مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک

از:

سیده منا مهدوی سعیدی

استاد راهنما:

دکتر زیور صالحی

استاد مشاور:

دکتر علی حمیدی مدنی

شهریور ۹۱

به تعداد تمام روزهای گذشته ام، صبوری

به تعداد تمام روزهای آینده ام، دلواپسی

به تعداد آرامش تمام خوابهای کودکی ام، بیداری

تنها بهانه هایی اند برای بوسیدن خستگی دستان پدری که عمرش به پای بالیدنم صرف شده

و بهانه هایی برای در آغوش کشیدن مادری که نوازشگر دلتنگی های تمام سالهای عمرم بوده است

بی بهانه - به پاس نشان قدردانی ام -

پایان نامه ام، تقدیم به پدر و مادر مهربانم

شاکرم پروردگار بی همتا را که دگربار، اندوختن دانشی هرچند اندک را روزیم فرمود. اینک که توفیق تهیه این مجموعه را یافته ام، بر خود واجب می دانم از تمام عزیزانی که در طی انجام این امر یاری‌ام نموده‌اند تشکر و قدردانی نمایم.

شایسته است از استاد راهنمای بزرگوارم سرکار خانم **دکتر زیور صالحی** که در مراحل مختلف تحقیق همواره در کمال اخلاص، راه‌گشای مشکلاتم بوده‌اند، صمیمانه تشکر و قدردانی نمایم.

از استاد مشاور گرامی‌ام جناب آقای **دکتر علی حمیدی مدنی** کمال امتنان را دارم.

از استاد گرانقدرم جناب آقای **دکتر فرهاد مشایخی** که همواره از دلسوزی‌ها و راهنمایی‌های ارزشمندشان بهره برده‌ام و زحمت قرائت و داوری پایان نامه را بر عهده داشتند، بسیار سپاسگزارم.

از جناب آقای **دکتر محمدجواد مهدی‌پور مقدم** که زحمت قرائت و داوری پایان‌نامه را بر عهده داشتند، کمال تشکر را دارم.

از **اساتید گرامی‌ام** در گروه زیست شناسی و ژنتیک و کارشناسان محترم گروه، صمیمانه سپاسگزارم.

از پدر و مادر عزیز و مهربانم که همواره پشتیبان من بوده و مدیون زحماتشان هستم کمال تشکر و قدردانی را دارم. همچنین از خواهر و برادر عزیزم نینا و نصیر صمیمانه قدردانی می‌نمایم.

از همکلاسی‌ها و دوستان عزیز که یاری‌ام نموده‌اند، خانم‌ها و آقایان: فرجی، خدایاری، دهسرائی، موسوی، صبوحی، میرزایی، داسار، خرمی، شکری، صداقت، مودب پور، مهدوی، کیانی، مقدس زاده و پورموسوی کمال تشکر را دارم.

عنوان **صفحه**

فصل اول

۱- مقدمه..... ۲

۱-۱- بررسی ناباروری در مردان..... ۲

۱-۱-۱- آنالیز مایع منی..... ۳

۱-۲- سبب شناسی ناباروری مردان..... ۵

۱-۳- طبقه بندی علل ناباروری در مردان ۶

۱-۳-۱- دلایل غیر ژنتیکی ۶

۱-۳-۱-۱-برخی بیماری های عفونی ۶

۱-۳-۱-۲-ضعف جنسی ۶

۱-۳-۱-۳-عوامل محیطی ۷

۱-۳-۱-۴-عوامل ایمونوژنتیکی ۸

۱-۳-۱-۵-هیپوگنادیسم هیپوگنادوتروفیک ۸

۱-۳-۱-۶- واریکوسل ۸

۱-۳-۲- دلایل ژنتیکی ۸

۱-۳-۲-۱- اختلالات کروموزومی ۹

۱-۳-۲-۲- جهش های DNA میتوکندریایی ۹

۱-۳-۲-۳- اختلالات مونوژنیک ۹

۱-۳-۲-۴- اختلالات چندعاملی ۱۰

۱-۳-۲-۵- ریزحذف های کروموزوم Y ۱۰

۱-۳-۲-۶- پلی مورفیسم های ژنی ۱۱

۱-۴- ناباروری مردان و گونه های فعال اکسیژن (ROS) ۱۳

۱-۴-۱- منابع تولید ROS ۱۳
۱-۵- استرس اکسیداتیو ۱۴
۱-۵-۱- منابع تولید استرس اکسیداتیو ۱۴
۱-۶- رادیکال های آزاد ۱۵
۱-۷- آنتی اکسیدان‌ها ۱۷
۱-۷-۱- سلنو پروتئین ۱۸
۱-۷-۱-۱- انواع سلنوپروتئین ها ۲۰
۱-۷-۱-۲- سلنوپروتئین S (SEPS1) ۲۲
۱-۷-۲- پلی مورفیسم ژنتیکی ۲۴
۱-۷-۲-۱- پلی مورفیسم های ژن SEPS1 ..... ۲۵
۱-۸- هدف از تحقیق ۲۷

فصل دوم

۲- مواد و روش ها ۲۹
۲-۱- مواد و لوازم مورد نیاز ۲۹
۲-۱-۱- مواد و لوازم مورد نیاز جهت نمونه گیری ۲۹
۲-۱-۲- مواد و لوازم مورد نیاز جهت استخراج DNA از لوکوسیت های خون محیطی ۲۹
۲-۱-۳- مواد و لوازم مورد نیاز در الکتروفورز ژل آگارز به منظور ارزیابی کیفیت DNA ژنومی استخراج شده ۳۰
۱-۲-۴- مواد و لوازم مورد نیاز جهت انجام واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR) ۳۰
۲-۱-۵- مواد و لوازم مورد نیاز درالکتروفورز محصولات PCR به کمک ژل آگارز ۳۱
۲-۱-۶- مواد و لوازم مورد نیاز جهت هضم آنزیمی RFLP ۳۲
۲-۱-۷- آماده سازی بافرها ۳۲
۲-۱-۷-۱- بافر TBE با غلظت 10X (TBE-10X) ۳۲

۲-۱-۷-۲- بافر TBE با غلظت 1X (TBE-1X) ۳۲
۲-۱-۷-۳- محلول NaCl 5M..... ۳۳
۲-۲- وسایل و تجهیزاتی که در آزمایشگاه مورد استفاده قرار می گیرند..... ۳۳
۲-۳- روش کار..... ۳۴
۲-۳-۱- نمونه گیری..... ۳۴
۲-۳-۲- استخراج DNA ژنومی از خون..... ۳۴
۲-۳-۳- ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده به کمک ژل آگارز (الکتروفورز افقی) ۳۵
۲-۳-۴- انجام واکنش زنجیره ای پلی مراز (Polymerase Chain Reaction)..... ۳۶
۲-۳-۴-۱- واکنش زنجیره ای پلی مراز (Polymerase Chain Reaction) ۳۷
۲-۳-۴-۲- آغازگرهای (Primer) مورد استفاده برای تکثیر ژن SEPS1..... ۳۷
۲-۳-۴-۳- چرخه حرارتی PCR..... ۳۹
۲-۳-۴-۴-پروفایل حرارتی واکنش PCR..... ۴۰
۲-۳-۵- الکتروفورز افقی جهت بررسی کیفیت محصول PCR ۴۰
۲-۳-۶- هضم آنزیمی Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) ۴۱
۲-۳-۷- الکتروفورز محصولات برش خورده بر روی ژل آگارز ۳٪..... ۴۲
۲-۳-۸- آنالیز آماری..... ۴۲

فصل سوم

۳- نتایج..... ۴۴
۳-۱- خصوصیات نمونه ها..... ۴۴
۳-۲- نتایج بررسی های مولکولی..... ۴۴
۳-۲-۱- نتایج بررسی کیفیت DNA استخراج شده توسط ژل آگارز ۰٫۸٪ (الکتروفورز افقی)..... ۴۴
۳-۲-۲- نتایج حاصل از واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR) ۴۶

۳-۲-۲-۱- بررسی کیفیت قطعات DNA ی تکثیر شده مربوط به PCR توسط ژل آگارز ۲٪ (الکتروفورز افقی) ۴۶

۳-۲-۲-۲- نتایج حاصل از ژنوتایپینگ SEPS1.....۴۷

۳-۳- نتایج آنالیز های آماری SEPS1.....۴۹

۳-۳-۱- بررسی فراوانی اللی SEPS1.....۴۹

۳-۳-۲- بررسی فراوانی ژنوتیپی SEPS1.....۴۹

فصل چهارم

۴-۱- بحث ۵۳

۴-۲- پیشنهادات.....۵۸

فصل پنجم

۵- منابع.....۶۰

عنوان شکل ها

شکل (۱-۱) نواحی AZF در کروموزوم Y.....۱۱

شکل (۱-۲) برخی منابع تولید استرس اکسیداتیو و بالانس استرس اکسیداتیو (Tremellen, 2008).....۱۵

شکل (۱-۳) رفتار آنتی اکسیدانی.....۱۶

شکل (۱-۴) موقعیت توالی SECIS در یوکاریوت ها و پروکاریوت ها.....۱۹

شکل (۱-۵) مکانیسم سنتز سلنوسیستئین از کدون UGA.....۱۹

شکل (۱-۶) ساختار tRNA خاص سلنوسیستئین در یوکاریوت ها، آرکی ها و باکتری ها.....۲۰

شکل (۱-۷) نمایی شماتیک از کروموزوم ۱۵ و مکان ژن سلنوپروتئین S.....۲۳

شکل (۱-۸) ساختار ۳ بعدی سلنو پروتئین S ۲۴

شکل (۱-۹) نمایی شماتیک از برخی پلی مورفیسم های سلنو پروتئین S..... ۲۶

شکل (۲-۱) Alignment پرایمرهای Forward و Reverse با نرم افزار Oligo 7. ..... ۳۸

شکل (۲-۲) پروفایل حرارتی PCR..... ۴۰

شکل (۳-۱) تصویر DNA ی استخراج شده از لوکوسیت های خون محیطی..... ۴۵

شکل (۳-۲) تصویر مربوط به محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۲٪ جهت اطمینان از تکثیر قطعه مورد نظر..... ۴۷

شکل (۳-۳) تصویر ژل آگارز ۳٪ مربوط به هضم آنزیمی..... ۴۸

شکل (۳-۴) نمودار مربوط به فراوانی وقوع پلی مورفیسم G>A در افراد کنترل و بیمار..... ۵۰

عنوان جداول

جدول (۱-۱) مقادیر استاندارد پارامترهای مربوط به آنالیز مایع منی براساس معیارهای سازمان سلامت جهانی..... ۴

جدول (۱-۲) اصطلاحات تشخیصی در ارتباط با ناهنجاری های مایع منی براساس معیارهای سازمان سلامت جهانی..... ۵

جدول (۱-۳) فراوانی برخی ناهنجاری های ژنتیکی مرتبط با ناباروری مردان..... ۱۲

جدول (۲-۱) مقادیر مواد مورد استفاده در واکنش PCR..... ۳۷

جدول (۲-۲) توالی پرایمرهای مورد استفاده در واکنش PCR..... ۳۸

جدول (۲-۳) چرخه حرارتی PCR..... ۳۹

جدول (۲-۴) نام و خصوصیات آنزیم مورد استفاده..... ۴۱

جدول (۲-۵) مواد مورد استفاده در هضم آنزیمی مربوط به آنزیم MscI (MlsI)..... ۴۱

جدول (۳-۱) نتایج آنالیز مایع منی افراد بیمار..... ۴۴

جدول (۳-۲) فراوانی اللی پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی G>A ژن SEPS1 ..... ۴۹

جدول (۳-۳) نتایج مربوط به فراوانی ژنوتیپ های مشاهده شده ژن SEPS1..... ۵۱

بررسی پلی مورفیسم ژن SEPS1 در مردان مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک

سیده منا مهدوی سعیدی

چکیده

ناباروری به حالتی اطلاق می شود که یک زوج، بعد از ۱سال مقاربت بدون پیشگیری، نتوانند باردار شوند. علت ناباروری در ۵۰٪ موارد همچنان نامشخص است که "ناباروری ایدیوپاتیک" خوانده می شود. تنش اکسیداتیو از عوامل موثر در ناباروری است. آنتی اکسیدان ها در برطرف کردن تنش اکسیداتیو بسیار مهم می باشند. آنتی اکسیدان های متعددی جهت حفاظت اسپرماتوزوآ در این رابطه وجود دارند. یک گروه از آنتی اکسیدان ها سلنوپروتئین ها می باشند. ژن سلنوپروتئین S (SEPS1) روی کروموزوم 15q26.3 قرار دارد و در جایگاه فعال خود حاوی سلنوسیستئین (SeC) می باشد. بیان SEPS1 با استرس شبکه اندوپلاسمی (ER) فعال می شود. از سوی دیگر سطح بالایی از ROS در نمونه های منی ۲۵٪ تا ۴۰٪ از مردان نابارور یافت شده است. در این مطالعه، پلی مورفیسم پروموتر (105G>A) ژن SEPS1 در رابطه با ناباروری ایدیوپاتیک مردان مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور از ۶۳ مرد مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک و ۷۰ مرد سالم نمونه خون تهیه گردید. پس از استخراج DNA، بررسی ژنوتیپ ها به روش PCR-RFLP با استفاده از آنزیم MscI صورت گرفت. فراوانی ژنوتیپ GG، GA و AA در افراد بیمار به ترتیب ۶۸/۲۵٪ ، ۳۰/۱۵٪ ، ۱/۵۸٪ و در افراد سالم به ترتیب ۹۰٪، ۱۰٪ و ۰٪ بود. بر اساس آنالیزهای آماری، ارتباط معنی داری (P=0.003) میان این پلی مورفیسم و ناباروری ایدیوپاتیک مردان مشاهده گردید. الل A به عنوان عامل خطر در ارتباط با ناباروری ایدیوپاتیک مردان در جمعیت مورد مطالعه شناخته شد (OR: 3.8, 95% CI 1.55-9.28, p= 0.003). نتایج حاصل از این مطالعه نقش احتمالی پلی مورفیسم ژن SEPS1 را در ناباروری ایدیوپاتیک مردان در جمعیت مورد مطالعه نشان می دهد. گرچه جهت تائید اهمیت پلی مورفیسم ژن SEPS1 در ناباروری ایدیوپاتیک مردان، مطالعه باید در جمعیت بزرگتر ژنی صورت گیرد.

کلید واژه: SEPS1، ناباروری ایدیوپاتیک مردان، پلی مورفیسم

An investigation on polymorphism of the SEPS1 gene in men with idiopathic infertility

Seyedeh Mona Mahdavi Saeidi

Abstract

Infertility, described as the inability to become pregnant after at least 1 year of regular and unprotected coition. The etiology is still unknown in about 50% cases and it is named “idiopathic infertility”. Oxidative stress is an impressive factor in infertility. Antioxidants are very important in removing oxidative stress. There are several antioxidants to protect spermatozoa in this case. Selenoproteins are one of these antioxidant groups. SEPS1 (Selenoprotein S1) encoding gene is located on chromosome 15q26.3 and it has selenocysteine at the active site. SEPS1 expression is actuated by endoplasmic reticulum (ER) stress. On the other hand, high levels of ROS are finded in semen samples of 25% to 40% of infertile men. In this study SEPS1 gene -105G>A promoter polymorphism were evaluated in men with idiopathic infertility. Thereby, blood samples were obtained from 63 male patients with idiopathic infertility and 70 healthy controls. After DNA extraction, the genotyping were determined by using PCR-based restriction fragment length polymorphisms (PCR-RFLP) and MscI enzyme. Genotype frequencies for GG, GA and AA of the patient groups determined respectively 68.25%, 30.15%, 1.58% and of the control respectively 90%, 10% and 0%. Carrying the A allele was significantly associated with increased risks of idiopathic male infertility in related population (OR: 3.8, 95% CI 1.55-9.28, p= 0.003). Results indicate the probable impact of SEPS1 polymorphism in association with idiopathic male infertility in the corresponding population. Though, a larger clinical study should be undertaken with a larger population sample to investigate the real meaning of correlations between SEPS1 gene polymorphisms and male infertility.

Key words: SEPS1, Idiopathic male infertility, Polymorphism

فصل اول

مقدمه

مقدمه

۱- مقدمه

ناباروری یکی از مشکلات سلامت تولیدمثل است که بسیاری از زوجین را در جهان تحت تأثیر قرار داده است و منجر به آسیب های روانی و عاطفی در زوجین می گردد (Seshagiri, 2001). طبق تعریف WHO، ناباروری به عدم توانایی جنسی زوجین در بچه دار شدن پس از حداقل ۱۲ ماه مقاربت منظم، متوالی و حفاظت نشده اطلاق می گردد (Dohle *et al.*, 2005).

با توجه به رشد و توسعه جوامع بشری و استفاده روزافزون از مواد شیمیایی مضر و همچنین تغییر الگوی زندگی و عادات فردی، احتمال افزایش ناباروری در سال های آینده وجود دارد. تخمین زده شده است که ناباروری، ۱۰ تا ۱۵ درصد زوج ها در سرتاسر جهان را تحت تأثیر قرار می دهد و فاکتورهای مربوط به مردان، حدود ۵۰٪ موارد را شامل می شود (Massart *et al.*, 2011; Okabe *et al.*, 1998). علی رغم پیشرفت های علم پزشکی، در ۴۰ تا ۶۰ درصد موارد، در رابطه با ناباروری با فاکتور مردانه[1] هیچ علت مشخص یا ناهنجاری (در معاینات فیزیکی و یا تست های آزمایشگاهی) دیده نمی شود که "ناباروری ایدیوپاتیک"[2] نامیده می شود. ناباروری مردان یکی از بهترین مثال های بیماری های چند ژنی چند عاملی[3] می باشد (Ferlin *et al.*, 2006).

۱-۱- بررسی ناباروری در مردان

بررسی ناباروری مردان پس از یک سال مقاربت منظم و حفاظت نشده و عدم کسب نتیجه موردنظر آغاز می شود. این بررسی نیازمند اطلاعاتی در زمینه سابقه خانوادگی، معاینه فیزیکی، آنالیز مایع منی، آنالیز ژنتیکی و تاریخچه فرد می باشد. بدین منظور پزشکان، ارزیابی بیماری را با یک تاریخچه پزشکی از دوران طفولیت و بزرگسالی، بیماری های انتقالی از طریق جنسی، جراحی ها، عفونت های گذشته، آسیب به بیضه ها، عادات فردی و شغلی و تماس با داروها یا مواد شیمیایی مضر

1. Male Factor Infertility
2. Idiopathic infertility
3. Polygenic multifactorial disease

آغاز می کنند. سپس معاینه فیزیکی جهت بررسی هرگونه ناهنجاری های آناتومیکی در اندام تناسلی مرد از قبیل واریکوسل[1]، بیضه های کوچک یا نزول نکرده یا هر شرایط دیگری که باروری را تحت تأثیر قرار دهد و همین طور آزمایشات خون جهت بررسی نقص های هورمونی و دلایل ژنتیکی ناباروری انجام می شود. اما در سنجش ناباروری مردان، ضروری ترین مرحله، آنالیز مایع منی است زیرا به کمک این آنالیز می توان فعالیت تولید مثلی مرد را ارزیابی کرده و شدت ناباروری را تشخیص داد (Bernstein *et al.*, 2006).

۱-۱-۱- آنالیز مایع منی

آنالیز مایع منی اساسی ترین و مفیدترین راه بررسی ناباروری مردان است. انجام این تست ارزان و آسان است و اطلاعات ارزشمندی را فراهم می کند. آنالیز استاندارد مایع منی که مطابق معیارهای WHO باید انجام پذیرد، شامل اندازه گیری دانسیته ی اسپرم، تعداد کل اسپرم ها، تحرک، مورفولوژی و پارامترهای مربوط به منی از قبیل حجم آن، PH و ویسکوزیته می باشد (Krausz, 2011). محدوده ی قابل قبول پارامترهای مربوط به آنالیز مایع منی براساس معیارهای سازمان سلامت جهانی (WHO) در جدول (۱-۱) نشان داده شده است.

1. Varicocele

جدول (۱-۱) مقادیر استاندارد پارامترهای مربوط به آنالیز مایع منی براساس معیارهای سازمان سلامت جهانی (WHO).

(Chalmers *et al.*, 1999)

حجم[1] مایع منی	>۲ میلی لیتر
pH	۷-۸
تراکم اسپرم[2]	>۲۰ میلیون/میلی لیتر
تعداد کل اسپرماتوزوآ	>۴۰ میلیون/انزال
تحرک[3]	>۵۰٪ با حرکت جلو رونده[4] و یا ۲۵٪ با حرکت سریع طی ۶۰ دقیقه پس از انزال
مورفولوژی[5]	>۱۴٪ شکل و فرم نرمال
زیست پذیری[6]	>۵۰٪ اسپرماتوزوآ
لوکوسیت ها	<۱ میلیون/میلی لیتر

هنگامی که نتایج آنالیز مایع منی براساس مقادیر ذکر شده در جدول (مطابق معیارهای WHO) غیرطبیعی باشد، ناباروری با فاکتور مرد (MFI) تشخیص داده می شود (Chalmers *et al.*, 1999). برخی از اصطلاحاتی که برای توصیف ناهنجاری های مایع منی بکار می رود براساس تعاریف سازمان سلامت جهانی (WHO) در جدول (۲-۲) ذکر شده است.

1 . Volume
2 . Sperm concentration
3 . Motility
4 . Progressive motility
5 . Morphology
6 . Viability

جدول (۱-۲) اصطلاحات تشخیصی در ارتباط با ناهنجاری های مایع منی براساس معیارهای سازمان سلامت جهانی (WHO).

(Krausz, 2011)

الیگوزواسپرمی[۱]	تراکم اسپرم <۱۵×۱۰^۶/میلی لیتر؛ تعداد کل اسپرم <۳۹×۱۰^۶/میلی لیتر
آستنوزواسپرمی[۲]	<۳۲٪ اسپرم متحرک
تراتوزواسپرمی[۳]	<۴٪ اسپرم نرمال از نظر مورفولوژیکی
الیگو-آستنو- تراتوزواسپرمی[۴]	اختلال هر سه پارامتر فوق
آزواسپرمی[۵]	فقدان اسپرم در مایع منی
کریپتوزواسپرمی[۶]	عدم مشاهده اسپرم در بررسی اولیه ولی قابل مشاهده در رسوب حاصل از سانتریفیوژ
آاسپرمی[۷]	فقدان مایع منی
لوکواسپرمی (لوکوسیتواسپرمی)[۸]	<۱×۱۰^۶/میلی لیتر لوکوسیت در مایع منی

۱-۲- سبب شناسی[۹] ناباروری مردان

ناباروری در مردان ممکن است بر اثر ناهنجاری های مادرزادی و یا اکتسابی ایجاد شود. ناباروری به دو صورت اولیه و ثانویه بروز می کند. در ناباروری اولیه، سابقه بارداری منفی است درصورتی که در ناباروری ثانویه، فرد حداقل دارای یک فرزند

1 . Oligozoospermia
2 . Asthenozoospermia
3 . Teratozoospermia
4 . Oligo-asteno-teratozoospermia
5 . Azoospermia
6 . Cryptozoospermia
7 . Aspermia
8 . Leucospermia (leucocytospermia)
9 . Etiology

می باشد ولی در بارداری های بعدی، نتیجه ی موفقیت آمیز حاصل نمی گردد(de La Rochebrochard and Thonneau, 2002). ناباروری مردان یک سندرم چند عاملی[1] است که دارای تنوع وسیعی از اختلالات می باشد و با عوامل ژنتیکی و غیرژنتیکی متعددی در ارتباط است (Poongothai *et al.*, 2009).

۱-۳- طبقه بندی علل ناباروری در مردان

ناباروری در مردان می تواند به دلایل ژنتیکی و غیرژنتیکی باشد(Ferlin *et al.*, 2007).

۱-۳-۱- دلایل غیر ژنتیکی

۱-۳-۱-۱- بیماری های عفونی

این عوامل خصوصاً بعد از بلوغ اسپرماتوژنز را تحت تأثیر قرار می دهند.

نایسریا گونوره (*N. gonorrhoeae*) در مردان جوان موجب التهاب کیسه اسکروتوم می شود. ورم های بدون درد درون اسکروتوم شایع تر است. اغلب این ورم های کوچک، کیست های اپیدیدیمی یا اسپرماتوسل ها هستند که نیاز به درمان ندارند (Perucca *et al.*, 2004).

۱-۳-۱-۲- ضعف جنسی[2]

ضعف جنسی در ٪۱۵-۱۰ مردان دیده می شود و عواملی از قبیل داروها، اختلالات فشار خون، اختلالات هورمونی و ناهنجاری های ایمپالس عصبی، فاکتورهای اصلی در ٪۸۰ موارد ضعف جنسی می باشند (Poongothai *et al.*, 2009).

1 . Multifactorial
2 . Impotency

۱-۳-۱-۳- عوامل محیطی

از عوامل محیطی می توان به آلاینده های محیطی مانند فلزات سنگین، سموم، آلوده کننده های صنعتی و کشاورزی و همچنین آفت کش ها اشاره کرد که ممکن است بر کیفیت اسپرم اثر گذاشته و موجب کاهش باروری در مردان شوند (Wald *et al.*, 1995) و از طرف دیگر باعث افزایش تولید ROS[1] (گونه های فعال اکسیژن) شده و استرس اکسیداتیو را القا می کنند (Ten et al., 2008). چنین عوامل محیطی با غلظت های بالا معمولاً در مشاغل خاص و با غلظت های کمتر در محیط های عمومی وجود دارند. از دیگر عوامل محیطی می توان به شیوه ی زندگی و عادات فردی افراد اشاره کرد از قبیل: مصرف دخانیات، مصرف الکل، استرس، گرما و چاقی.

مصرف دخانیات: باعث افزایش ناهنجاری های اسپرم از قبیل کاهش تعداد اسپرم، کاهش تحرک آن و افزایش آسیب DNA اسپرم می شود (Bihui *et al.*, 1997) و همچنین موجب افزایش سطح ROS در بدن و کاهش آنتی اکسیدان های اسپرم می شود (Haines *et al.*, 2005).

مصرف الکل: بر کیفیت مایع منی اثر گذاشته و از آنجا که به عنوان توکسین مستقیم برای بیضه معرفی شده اند، منجر به کاهش تعداد اسپرم با مورفولوژی طبیعی می گردند (Volkamer *et al.*, 2006)

استرس: استرس حاد با کاهش تعداد، تحرک و مورفولوژی اسپرم مرتبط است (Moretto *et al.*, 1993).

گرما: افزایش دمای پوست اسکروتال با کاهش کیفیت اسپرم همراه بوده و منجر به کاهش تعداد اسپرم و تغییر مورفولوژی اسپرم می شود. در نتیجه مشاغل مرتبط با فضاهای گرم، پوشیدن لباس های زیر تنگ، فعالیت های ورزشی شدید، سونا و عواملی از این قبیل می توانند فرآیند اسپرماتوژنز را دچار اختلال کنند (Wald *et al.*, 1995).

چاقی: از دیگر عوامل کاهش باروری در مردان چاقی می باشد زیرا بر اساس تحقیق های انجام شده، به دلیل مقادیر تغییر یافته ی هورمون های جنسی، ارتباط منفی بین چاقی و کیفیت مایع منی وجود دارد به طوری که موجب کاهش در تعداد و تحرک اسپرم می گردد (Kort *et al.*, 2006).

1 .Reactive Oxygen Species

۱-۳-۱-۴- عوامل ایمونوژنتیکی

از آنجائی که در هر مرحله از پروسه های تولیدمثلی انسان، فاکتورهای ایمونولوژیکی ایجاد می شوند، آنتی بادی های ضد اسپرم موجب تجمع و یا انعقاد اسپرم شده و باعث مهار عبور آنها می گردند. بنابراین اتصال اسپرم- اووسیت توسط این آنتی بادی ها بلوکه می شود. (Hamada *et al.*, 2011).

۱-۳-۱-۵- هیپوگنادیسم هیپوگنادوتروفیک[1]

هیپوگنادیسم هیپوگنادوتروفیک (HH)، به علت ناتوانی در تنظیم هورمونی است. در این بیماران ترشح هورمون لوتئینی کننده (LH) و هورمون محرک فولیکولی (FSH) کاهش یافته و در نتیجه منجر به فقدان اسپرماتوژنز می گردد (Dohle *et al.*, 2005; Krausz *et al.*, 2003).

۱-۳-۱-۶- واریکوسل

واریکوسل شایع ترین علت قابل درمان ناباروری در مردان است. در این حالت سیاهرگ های شبکه پامپینیفرم[2] در طناب اسپرماتیک بطور آشکار متورم می شود (Fabio *et al.*, 2004). واریکوسل با ناهنجاری های مایع منی، کاهش حجم بیضه و نقص در عملکرد سلول های لیدیگ مرتبط است (Dohle *et al.*, 2005) و می تواند منجر به ناباروری شود.

۱-۳-۲- دلایل ژنتیکی

ناهنجاری های ژنتیکی شامل اختلالات کروموزومی، نواقص ژنتیکی کروموزوم Y، جهش های DNA میتوکندریایی، اختلالات مونوژنیک، اختلالات چند عاملی و پلی مورفیسم های ژنی می باشد.

1 . Hypognadotrophic Hypogonadism
2 . Pampiniform

۱-۳-۲-۱- اختلالات کروموزومی

اختلالات کروموزومی، سندرم های مختلف، جابجایی های خاص مثل جابجایی رابرت سونی[1] و جابجایی های دوطرفه[2] را شامل می شود. در سندرم کلاین فلتر[3] (47 XXY) عملکرد سلول های لایدیگ کاملاً از بین می رود (Wang et al., 1975). در سندرم 47 XYY، عدم تعادل هورمونی ایجاد شده و بر روی عملکرد گنادوتروپین اثر می گذارد و منجر به ناباروری در مردان می شود (Peri *et al.*, 2003). سندرم سلول سرتولی از لحاظ بافتی با فقدان اپیتلیوم زاینده در توبول های بیضه و درنتیجه فقدان کامل مایع منی (Asperima) همراه است. در این سندرم میزان FSH بالا بوده ولی میزان LH و تستوسترون طبیعی است (Bolt *et al.*, 1978). سندرم نونان[4] ناهنجاری رشد و نموی است که منجر به ناباروری در مردان می شود. در گذشته این سندرم، ترنر مردانه نامیده می شد (Mariathasan *et al.*, 2004).

۱-۳-۲-۲- جهش های DNA میتوکندریایی

میتوکندری اسپرم نقش مهمی در تحرک اسپرم بازی می کند، زیرا اسپرم نیازمند مقادیر بالای ATP است و این اندامک منبع تولید ATP برای حرکت اسپرم محسوب می شود. ژن های موجود در DNA میتوکندریایی تأثیر به سزایی در تحرک اسپرم دارند و درنتیجه، تغییرات ژنتیکی mtDNA می تواند در ناباروری مردان اثرگذار باشد(Largo *et al.*, 2003; Poongothai *et al.*, 2009).

۱-۳-۲-۳- اختلالات مونوژنیک

اختلالات مونوژنیک یا تک ژنی براساس قانون مندل به ارث می رسند (Poongothai *et al.*, 2009) و می توانند منجر به ناباروری شوند. بیش از ۵۰ اختلال مونوژنیک در ارتباط با ناباروری مردان وجود دارد. به عنوان مثال: سندرم Apert

1 . Robertsoniam translocation
2 . Reciprocal translocation
3 . Kline felter`s syndrome
4 . Noonan syndrome