

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشکده علوم پایه

پایان نامه کارشناسی ارشد

بررسی ارتباط پلی مورفیسم ژن گیرنده ی فاکتور مهارکننده ی لوکمیا و نتیجه ی
لقاح مصنوعی و انتقال جنین

از:

مریم کریمی پور

استاد راهنما:

دکتر فرهاد مشایخی

شهریور ۱۳۹۲



دانشکده علوم پایه

گروه زیست شناسی

(گرایش سلولی-تکوینی)

بررسی ارتباط پلی مورفیسم ژن گیرنده‌ی فاکتور مهارکننده‌ی لوکمیا و
نتیجه‌ی لقاح مصنوعی و انتقال جنین

از:

مریم کریمی پور

استاد راهنما:

دکتر فرهاد مشایخی

استاد مشاور:

دکتر محمد هادی بهادری

شهریور ۱۳۹۲

تقدیم ہے:

ہمسر مہربانم و دسترم کیمیا

بانهایت سپاس و قدردانی از اساتید فرزانه و ارجمندم جناب دکتر فرهاد مشایخی و

جناب دکتر محمد هادی بهادری که صمیمانه و صبورانه، مراد این پژوهش یاری نمودند...

فهرست مطالب

عنوان صفحه

چکیده فارسی:ز

چکیده انگلیسیس

فصل اول: مقدمه

۱- مقدمه ۱

۱-۱- علل ناباروری در زنان ۱

۱-۱-۱- علل شکست در تخمک گذاری ۱

۱-۱-۱-۱- مشکلات هورمونی ۲

۱-۱-۱-۱- آسیب تخمدانی ۲

۱-۱-۱-۱- یائسگی زودرس ۲

۱-۱-۱-۱- مشکلات فولیکولی ۲

۱-۱-۱-۱- سندروم پلی کیستیک تخمدان ۲

۱-۱-۲- عوامل عملکرد ضعیف لوله های فالوپ ۳

۱-۲-۱- عفونت ۳

۱-۲-۱-۱- بیماریهای حفره شکمی ۳

۱-۲-۱-۱- جراحی های قبلی ۳

۱-۲-۱-۱- حاملگی های نابجا ۴

۱-۲-۱-۱- نقایص ارثی ۴

۱-۳-۱- اندومتریوز ۴

۱-۴-۱- فاکتورهای دیگر که ممکن است در ناباروری نقش داشته باشند ۴

۱-۵-۱- فاکتورهای رفتاری ۵

- ۵-۱-۱-۶- فاکتورهای محیطی و شغلی..... ۵
- ۵-۱-۱-۷- فاکتورهای ژنتیکی..... ۵
- ۵-۲-۱- علل ناباروری مردان..... ۵
- ۶-۱-۲-۱- عوامل ژنتیکی..... ۶
- ۶-۲-۱- سندروم اختلال در تکوین بیضه..... ۶
- ۶-۲-۱-۳- واریکوسل..... ۶
- ۶-۲-۱-۴- آزواسپرمی..... ۶
- ۶-۲-۱-۴-۱- آزواسپرمی پیش بیضه ای..... ۶
- ۶-۲-۱-۴-۲- آزواسپرمی بیضه ای..... ۶
- ۶-۲-۱-۴-۳- آزواسپرمی پس بیضه ای..... ۶
- ۶-۲-۱-۵- آستنوآزواسپرمی..... ۶
- ۶-۲-۱-۶- تراتوزواسپرمی..... ۷
- ۶-۳-۱- تستهای تشخیصی برای باروری..... ۷
- ۶-۳-۱-۱- تاریخچه ی پزشکی و بررسی های فیزیکی..... ۷
- ۶-۳-۱-۲- مراحل مقدماتی اولیه..... ۷
- ۶-۳-۱-۲-۱- تعیین دمای پایه بدن..... ۷
- ۶-۳-۱-۲-۲- تست ثبات مایع موکوسی گردن رحم..... ۸
- ۶-۳-۱-۲-۳- تست ادرار برای تعیین هورمون لوتئینزه کننده (LH)..... ۸
- ۶-۳-۱-۴-۲- تستهای آزمایشگاهی..... ۸
- ۶-۳-۱-۴-۲-۱- سطح هورمونی..... ۸
- ۶-۳-۱-۴-۲-۲- تست کلومیفن..... ۸
- ۶-۳-۱-۴-۲-۳- نمونه های بافتی..... ۸

- ۹-۳-۲-۴- تست برای بیماریهای خودایمنی..... ۹
- ۹-۳-۲-۵- آزمایشات تصویری و روشهای تشخیصی..... ۹
- ۹-۴- درمان ناباروری ایدئوپاتیک..... ۹
- ۹-۴-۱- تزریق داخل رحمی اسپرم (IUI)..... ۹
- ۱۰-۴-۲- انتقال گامت به لوله فالوپ (GIFT)..... ۱۰
- ۱۰-۴-۳- انتقال جنین به لوله فالوپ (ZIFT)..... ۱۰
- ۱۰-۴-۴- تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم (ICSI)..... ۱۰
- ۱۰-۴-۵- (AZH) Assisted zona hatching..... ۱۰
- ۱۱-۴-۶- لقاح مصنوعی (IVF)..... ۱۱
- ۱۳-۴-۶-۱- عوامل تاثیرگذار روی لقاح مصنوعی و لانه گزینی..... ۱۳
- ۱۴-۵- لانه گزینی..... ۱۴
- ۱۴-۶-۱- فاکتور مهارکننده ی لوکمیا (LIF)..... ۱۴
- ۱۵-۶-۱- زن و ساختمان LIF..... ۱۵
- ۱۵-۶-۲- بیان LIF..... ۱۵
- ۱۵-۶-۳- ساختمان سوم پروتئین LIF..... ۱۵
- ۱۶-۷-۱- گیرنده ی LIF..... ۱۶
- ۱۷-۷-۱- زن LIF..... ۱۷
- ۱۷-۷-۲- LIFR غشایی..... ۱۷
- ۱۷-۷-۳- LIFR محلول..... ۱۷
- ۱۷-۸-۱- زن gp130 و ساختمان آن..... ۱۷
- ۱۸-۹-۱- مسیر سیگنالی LIF..... ۱۸
- ۱۸-۹-۱- مسیر Jak/STAT..... ۱۸

۱۹	STATs -۲-۹-۱
۱۹	تنظیم کننده های فیدبک منفی مسیریگنالی Jak/STAT
۱۹	SHP2 -۱-۱۰-۱
۱۹	پروتئینهای SOCS -۲-۱۰-۱
۲۰	PIAS -۳-۱۰-۱
۲۰	پروتئین کینازهای فعال کننده ی میتوزن ها (MAPK)
۲۱	فاکتور مهارکننده ی لوکمی و نقش آن
۲۲	LIF و سیستم عصبی
۲۳	LIF و متابولیسم استخوان
۲۳	نقش LIFR در فرآیندهای بیولوژیکی
۲۳	نقش LIFR در بیماریها
۲۳	Süve-Wiedmann سندروم
۲۴	سرطان پانکراس
۲۴	نوروبلاستوما
۲۴	چندشکلی گلیا بلاستومایی
۲۴	LIFR و سرطان سینه
۲۵	LIFR و لانه گزینی
۲۶	پلی مورفیسم یا چند شکلی ژنتیکی
۲۷	هدف از تحقیق
فصل دوم: مواد و روش ها	
۲۸	مواد و لوازم مورد نیاز
۲۸	مواد و لوازم مورد نیاز جهت نمونه گیری

- ۲۸-۱-۲- مواد و لوازم مورد نیاز جهت استخراج DNA از لکوسیت های خون ۲۸
- ۲۹-۱-۲- مواد و لوازم مورد نیاز در الکتروفورز ژل آگارز جهت ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده ۲۹
- ۲۹-۱-۲- مواد و لوازم مورد نیاز جهت انجام واکنش زنجیره ای پلی مرز (PCR) ۲۹
- ۲۹-۱-۲- مواد و لوازم مورد نیاز در الکتروفورز محصولات PCR به کمک ژل آگارز ۲۹
- ۳۰-۱-۲- آماده سازی بافرها و محلول ها ۳۰
- ۳۰-۲- لیست دستگاه ها و تجهیزاتی که در آزمایشگاه مورد استفاده قرار می گیرند ۳۰
- ۳۱-۲- روش کار ۳۱
- ۳۱-۳-۲- نمونه گیری ۳۱
- ۳۲-۲-۲- استخراج DNA ژنومی از لکوسیت های محلی خون ۳۲
- ۳۳-۳-۲- ارزیابی کیفیت استخراج DNA به کمک ژل آگارز (الکتروفورز افقی) ۳۳
- ۳۴-۳-۲- انجام واکنش زنجیره ای پلیمرازی (PCR) ۳۴
- ۳۴-۱-۴-۳-۲- واکنش Internal Standard- Control PCR ۳۴
- ۳۴-۱-۱-۴-۳-۲- انجام واکنش زنجیره ای PCR ۳۴
- ۳۵-۲-۱-۴-۳-۲- واکنش PCR برای تکثیر ژن LIFR ۳۵
- ۳۸-۳-۱-۴-۳-۲- چرخه حرارتی PCR ژن LIFR ۳۸
- ۳۸-۴-۱-۴-۳-۲- پروفایل حرارتی واکنش PCR ژن LIFR ۳۸
- ۳۹-۳-۲- محصولات PCR با استفاده از ژل آگارز ۲٪ (الکتروفورز افقی) ۳۹
- ۴۰-۴-۲- آنالیز آماری ۴۰

فصل سوم: نتایج

- ۳- نتایج ۴۱
- ۳-۱- بررسی خصوصیات نمونه ها ۴۱
- ۳-۲- نتایج بررسی های مولکولی ۴۱

- ۳-۲-۱- نتایج کیفیت DNA استخراج شده توسط ژل آگارز ۰/۸٪ (الکتروفورز افقی) ۴۱
- ۳-۲-۲- نتایج حاصل از واکنش زنجیره ای پلی مرز (PCR) ۴۲
- ۳-۲-۱- تکثیر ناحیه 254 C/T- ژن LIFR با استفاده از PCR ۴۳
- ۳-۳- نتایج آنالیز آمار ۴۳
- ۳-۱-۳- بررسی آلل های ناحیه LIFR 254C/T- ۴۳
- ۳-۱-۲- بررسی ژنوتیپ های ناحیه LIFR 254 C/T- ۴۶
- ۳-۳-۳- نتایج بدست آمده از فراوانی ژنوتیپی ناحیه 254 C/T-ژن LIFR ۴۸

فصل چهارم: بحث

- ۴-۱- بحث و نتیجه گیری ۴۹
- ۴-۲- پیشنهادات ۵۲
- منابع ۵۳

عناوین اشکال

- شکل (۱-۱): مرحله ایجاد شکاف در لایه شفاف سه روز پس از مرحله بازیابی اووسیت ها ۱۱
- شکل (۲-۱): مراحل لقاح مصنوعی ۱۳
- شکل (۳-۱): ساختار سه بعدی LIF مورین ۱۶
- شکل (۴-۱): شکل شماتیکی از مسیر LIF ۲۱
- شکل (۵-۱): نقش LIFR در مسیر HIPO-YAP ۲۵
- شکل (۶-۱): مهاجرت سلولهای تروفوبلاست (EVT) به اندومترיום ۲۶
- شکل (۱-۲): انطباق (alignment) آغازگرهای آلل C در پلی مورفیسم LIFR -254 C/T ۳۶
- شکل (۲-۲): انطباق (alignment) آغازگرهای آلل T در پلی مورفیسم LIFR -254 C/T ۳۷
- شکل (۳-۲): موقعیت پلی مورفیسم 254 C/T- محصول حاصل از PCR در ژن LIFR ۳۷
- شکل (۴-۲): پروفایل حرارتی واکنش PCR ژن LIFR ۳۸

- شکل (۱-۳): تصویر DNA استخراج شده از لکوسیت‌های خون بر روی ژل آگارز ۰/۸٪ ۴۲
- شکل (۲-۳): ژل آگارز مربوط به الکتروفورز محصولات PCR ۴۳
- شکل (۳-۳): مقایسه درصد فراوانی‌های آلی 254 C/T - در افراد کنترل و نابارور ۴۴
- شکل (۴-۳): مقایسه درصد فراوانی آلل‌ها در دو گروه IVF- و IVF+ ۴۵
- شکل (۵-۳): مقایسه درصد فراوانی ژنوتیپی 254 C/T LIFR - در افراد سالم و نابارور ۴۷
- شکل (۶-۳): مقایسه درصد فراوانی ژنوتیپی 254 C/T LIFR - در افراد نابارور - IVF و IVF+ ۴۸

عناوین جداول

- جدول (۱-۲): مواد مصرفی مورد نیاز PCR در ژن LIFR ۳۴
- جدول (۲-۲): توالی‌های پرایمر به کار رفته در تکثیر ناحیه‌ی 254C/T - در ژن LIFR ۳۵
- جدول (۳-۲): چرخه حرارتی PCR ژن LIFR پلی مورفیسم 254 C/T - ۳۸
- جدول (۱-۳): جدول مقایسه آلل‌ها در دو گروه افراد سالم و بیمار ۴۴
- جدول (۲-۳): جدول مقایسه آلل‌ها بین افراد پس از لقاح مصنوعی و افراد نابارور پس از لقاح مصنوعی ۴۶
- جدول (۱-۳): جدول مقایسه آلل‌ها در دو گروه افراد سالم و بیمار ۴۴
- جدول (۱-۳): جدول مقایسه آلل‌ها در دو گروه افراد سالم و بیمار ۴۴

بررسی ارتباط پلی مورفیسم ژن گیرنده ی فاکتور مهارکننده ی لوکمیا و نتیجه ی لقاح مصنوعی و انتقال جنین

مریم کریمی پور

ناباروری به ناتوانی بیولوژیکی یک شخص در بارداری گفته می شود. این ممکن است ناتوانی یک زن برای داشتن یک دوران حاملگی کامل نیز تعریف شود. ناباروری زنان علل متفاوتی دارد که یکی از مهمترین آنها شکست های لانه گزینی است. یکی از مهمترین وقایع لانه گزینی واکنش های بین مولکولی است. فاکتور مهارکننده لوکمیا یک سیتوکین گلیکوپروتئینی است که اولین بار بخاطر نقش تمایزی آن در تبدیل سلولهای لوکمی میلوئیدی M_1 به ماکروفاژها در موش شناسایی شد. در اندومترיום زنان سالم بیان *LIF* و mRNA ی آن همزمان با لانه گزینی افزایش می یابد. بلاستوسیت انسان mRNA ی *LIFR* و gp130 را نیز برای اتصال به اندومتر بیان می کند. هدف از این تحقیق بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم ژن گیرنده فاکتور مهارکننده ی لوکمیا (*LIFR*) و نتیجه لقاح مصنوعی و انتقال جنین بوده است. در این مطالعه از ۴۲ زن سالم (کنترل) و ۴۲ زن نابارور نمونه خون تهیه گردید و DNA ی ژنومی آنها از سلولهای لوکوسیت خون استخراج و ژنوتیپ آنها با روش واکنش های زنجیره پلی مرازی (PCR) و Allele Specific تعیین گردید. آنالیزهای آماری آن هم با استفاده از نرم افزار Med Calc با نسخه ۱۲ انجام شد. فراوانی ژنوتیپی TT,CT,CC در پلی مورفیسم 254 C/T- در ژن *LIFR* به ترتیب ۵٪ و ۹۵٪ و ۰٪ در نمونه های نابارور بود. در حالیکه در نمونه های کنترل ۱۴٪ و ۷۲٪ و ۱۴٪ بدست آمد. نتایج آماری ارتباط معناداری را بین پلی مورفیسم 254 C/T- *LIFR* و نتیجه لقاح مصنوعی در این دو گروه نشان نداد. بطور کلی نتیجه حاصل از این مطالعه نشان داد که ممکن است ارتباط معناداری بین پلی مورفیسم 254 C/T- در ژن گیرنده ی فاکتور مهارکننده لوکمیا و نتیجه لقاح مصنوعی و انتقال جنین در زنان نابارور در جمیت شمال ایران وجود نداشته باشد.

واژه های کلیدی: لانه گزینی، لقاح مصنوعی (IVF)، *LIFR*، پلی مورفیسم ژنی.

فصل اول:

مقدمه

۱- مقدمه

تولیدمثل تجربه‌ای ساده و طبیعی برای بسیاری از زوجین محسوب می‌شود، اگرچه دستیابی به آن برای بعضی زوجین مشکل است. با این وجود طی سالهای گذشته پیشرفتهای چشمگیری در تشخیص و بخصوص درمان اختلالات تولیدمثلی انجام گرفته است. ناباروری به عنوان یک مشکل مهم در علوم پزشکی و علوم اجتماعی محسوب می‌شود، که در زندگی افراد مهم و تاثیرگذار است حدود ۱۵ درصد از زوجها در کشورهای پیشرفته با مشکل ناباروری روبرو هستند (Healy *et al.*, 1994). ناباروری به ناتوانی برای باروری بعد از یکسال آمیزش مداوم بدون پیشگیری گفته می‌شود (Schmidt *et al.*, 1995). بررسی علت ناباروری بعد از یکسال تلاش مداوم برای باروری و عدم موفقیت بطور معمول انجام می‌گیرد، اما در زوجین با سن بالای ۳۵ سال زنان، معمولاً بعد از ۶ ماه عدم موفقیت در باروری زوجین شروع به بررسی علل ناباروری می‌کنند. ارزیابی‌ها شامل بررسی مایع منی، بررسی تخمک‌گذاری، هیستروسالپینوگرام^۱، و یا تستهایی برای ذخایر تخمدانی و لاپراسکوپ می‌باشد. وقتی نتایج همه‌ی این بررسی‌ها نرمال باشد در آن صورت روش‌های تشخیصی ناباروری ایدیوپاتیک^۲ انجام می‌گیرد، که ۱۵ تا ۳۰ درصد ناباروری‌ها را شامل می‌شود. عوامل مختلفی در ناباروری زنان وجود دارد، اجتماع استرس‌آور، پرتوهای رادیواکتیو خطرناک، کمبود غذاهای بیولوژیکی، اختلالات ژنتیکی، روشهای نادرست زندگی همه در ناباروری زنان می‌توانند اثرگذار باشند (Stephen and chanddra, 1998; The practice committee of the American society for reproductive medicine, 2006).

۱-۱- علل ناباروری در زنان

۱-۱-۱- علل شکست در تخمک‌گذاری

مشکلات و اختلالات تخمک‌گذاری یکی از شایع‌ترین دلایل ناتوانی باروری و علت حدود ۳۰ درصد از ناباروری زنان است. خوشبختانه حدود ۷۰ درصد از این موارد با استفاده از داروهایی مثل Clomiphen و Menogan/Reoronex قابل درمان است. عوامل مهم شکست در تخمک‌گذاری را میتوان به علل زیر تقسیم بندی کرد:

^۱ Hysterosalpinogram

^۲ Idiopathic

۱-۱-۱-۱- مشکلات هورمونی

مشکلات هورمونی یکی از مهمترین علل در تخمک‌گذاری است. روند تخمک‌گذاری وابسته به یک تعادل پیچیده بین هورمون‌ها و میانکنش‌های آنها است که باید خوب پیش برود و هرگونه انحراف در این روند می‌تواند آن را مختل کند (Crowley *et al.*, 1990).

۱-۱-۱-۲- آسیب تخمدانها

آسیب فیزیکی به تخمدان می‌تواند منجر به عدم تخمک‌گذاری شود. برای مثال جراحی‌های مکرر برای درمان کیست‌های تخمدانی می‌تواند باعث آسیب کپسول تخمدان یا زخم در آن شود که در اینصورت فولیکولها نمی‌توانند به خوبی بالغ و تخمک‌گذاری نمی‌تواند رخ دهد. عفونت نیز می‌تواند این اثر را داشته باشد (Glazener *et al.*, 1987; Norman *et al.*, 2007).

۱-۱-۱-۳- یائسگی زودرس^۳

در این حالت بسیاری از زنان قبل از رسیدن به سن نرمال یائسگی (۴۰ سالگی)، زودتر یائسه می‌شوند. عده ای عقیده دارند که در این مورد ذخیره طبیعی تخمک‌ها تمام می‌شود. همچنین در زنان ورزشکار که ورزش‌های سنگین انجام می‌دهند و با کاهش وزن زیاد همراه هستند نیز این حالت ایجاد می‌شود. یک احتمال ژنتیکی نیز وجود دارد مانند سندروم ترنر و سندروم X شکننده که می‌تواند باعث اختلال در تخمک‌گذاری تخمدانها و کاهش ذخیره‌ی تخمدانی شوند. (Lee John, 1999; Wilcox *et al.*, 1993).

۱-۱-۱-۴- مشکلات فولیکولی

در این مورد سندروم عدم پارگی فولیکول اتفاق می‌افتد که خانم‌ها یک فولیکول نرمال تولید می‌کنند که در آن یک تخمک وجود دارد ولی عدم پارگی فولیکول اتفاق می‌افتد. بنابراین تخمک داخل تخمدان باقی می‌ماند و تخمک‌گذاری مناسب رخ نمی‌دهد (Puri *et al.*, 1985).

۱-۱-۱-۵- سندروم پلی کیستیک تخمدان^۴

در این سندروم بدن مقدار زیادی هورمون اندروژن تولید می‌کند که روی تخمک‌گذاری اثر می‌گذارد و همراه با مقاومت به انسولین و چاقی نیز می‌باشد (Dahlgren *et al.*, 1992). زنان مبتلا به این سندروم دچار سقط جنین در سه ماه اول حاملگی می‌شوند. عوامل مختلفی در سقط جنین ناشی از این سندروم دخالت دارند. تخمدانهای مستعد پلی کیستیک، ناهنجاریهای جنینی، چاقی، نقایص اندومتری و ناهنجاریهای هورمونی مانند ترشح زیاد آندروژن یا ترشح زیاد

³ Premature Menopause

⁴ Polycystic ovary syndrome(PCOS)

انسولین (Hyperinsulinemia) و (insulin resistantance) می‌توانند از علل سقط جنین در زنان مبتلا به این سندروم باشد. از مهمترین علل مؤثر سقط جنین در این بیماری چاقی و ترشح بالای انسولین است که می‌تواند با اثر روی ترشح هورمون‌ها باعث افزایش ترشح اندروژن‌ها (افزایش تستوسترون) و کاهش پروتئین‌های مؤثر در لانه‌گزینی (مانند گلیکودلین) شوند و سقط جنین را در افراد مبتلا به این سندروم افزایش دهند. گلیکودلین و پروتئین اتصالی به هورمون رشد (IGFBP-1) از پروتئین‌های مهم در لانه‌گزینی طی حاملگی می‌باشند (Seppala et al., 1988).

۱-۱-۲- عوامل عملکرد ضعیف لوله‌های فالوپ

بیماری‌های لوله‌ای تقریباً ۲۵ درصد از ناباروری زوجها را تحت تاثیر قرار می‌دهد و از چسبندگی ضعیف تا مسدود شدن کامل لوله‌ها تقسیم بندی می‌شود. درمان آن ابتدا توسط جراحی صورت می‌گیرد و بعلت پیشرفت در میکرو جراحی و لیزرها بر اساس شمار خانمهایی که در یک سال حامله شده‌اند میزان موفقیت آن تا ۳۰ درصد افزایش یافته است که این میزان با روشهای مطمئن تر به ۶۵ درصد هم افزایش یافته است. عوامل اصلی آسیب لوله‌های فالوپ شامل:

۱-۱-۲-۱- عفونت

توسط عفونت‌های باکتریایی و ویروسی و معمولاً توسط مقاربت جنسی منتقل می‌شود. این عفونت‌ها باعث التهاب و در نتیجه منجر به زخم و آسیب به لوله‌های فالوپ می‌شوند. یک مثال ویژه آن Hydrosalpinx است که لوله‌های فالوپ در هر دو انتها بسته شده و مایع در لوله‌ها جمع می‌شود، علت ایجاد این حالت ناشی از عفونت‌های لگن در اثر باکتریایی مثل *Gonorrhea*، کلامیدیا، استافیلوکوک، استرپتوکوکوس، توبرکلوزیس لگن می‌تواند باشد. این باکتریها باعث آسیب به دیواره لوله‌ها و چسبندگی و تورم در آنها می‌شوند (Shevell et al., 2005).

۱-۱-۲-۱-۱- بیماری‌های حفره شکمی

عمومی‌ترین بیماریها آپاندیسیت و کولیت است که باعث التهاب در حفره شکمی می‌شود که روی لوله‌های فالوپ اثر و باعث زخم و مسدود شدن آنها می‌شود (Healy et al., 1994).

۱-۱-۲-۱-۱- جراحی‌های قبلی

این یک علت مهم در آسیب و بیماری‌های لوله‌ای است. جراحی شکم یا لگن می‌تواند منجر به چسبندگی و تغییر در لوله‌ها شود که در اینصورت تخمک‌ها نمی‌تواند از آنها عبور کنند (Belker et al., 1991).

۱-۲-۴- حاملگی نابجا

این یک نوع حاملگی است که در خارج از رحم و در لوله‌ها اتفاق می‌افتد که ممکن است باعث آسیب به لوله‌ها و حتی تهدیدکننده برای زندگی و سلامت فرد باشد (Steptoe *et al.*, 1980).

۱-۲-۵- نقایص ارثی

در موارد نادر خانمها ممکن است با ناهنجاریهای لوله‌ای بدنیا آمده باشند که معمولا با ناهنجاریهای رحمی همراه است (Visscher, 1994). در این مورد مشکلاتی در دوران جنینی در مراحل مختلف تکوین دستگاه تولیدمثل جنین به وجود می‌آید. ناهنجاریهای مادرزادی مانند رحم شاخه‌دار منجر به سقط جنین و یا عدم توانایی حمل جنین می‌شود (Mand Rao, 1997; Amesse *et al.*, 2007).

۱-۳- اندومتريوز

تقریباً ده درصد از ناباروری‌ها با اندومتريوز همراه است. در زنان دارای اندومتريوز شانس باروری و حاملگی ۱۲ تا ۳۶ درصد کاهش می‌یابد (Hoxsey *et al.*, 1997). این بیماری با رشد افزایشدهی آستر رحم مشخص می‌شود. رشد نه تنها در رحم بلکه در مکان‌های دیگر شکم مانند لوله‌های فالوپ، تخمدانها و صفاق لگن هم رخ می‌دهد. یک روش تشخیصی آن لاپراسکوپي است که در این روش پزشک رحم، تخمدانها و لوله‌های فالوپ و حفره‌ی لگنی را مستقیماً مشاهده و بررسی می‌کند (Hayden, 1956). علائم آن شامل عادت ماهیانه شدید و طولانی و دردناک، خونریزی رکتال، لکه‌بینی بیش از عادت ماهیانه است. البته همه موارد گاهی مواقع با هم رخ نمی‌دهد و ارتباطی بین شدت علائم و گستردگی بیماری نیز وجود ندارد (Chehval and Purrcell, 1992).

۱-۴- فاکتورهای دیگر که ممکن است در ناباروری خانمها نقش داشته باشد

در ۱۰ درصد موارد در ناباروری خانمها، رحمهای غیرعادی نقش دارد مانند فیبروئید، پولیپ و آدنومیوزیس، منجر به انسداد رحم و لوله‌های فالوپ می‌شوند. تقریباً ۳ درصد از زوجین بخاطر مشکلات در موکوس سرویکس با ناباروری مواجه می‌شوند. موکوس باید در یک ثبات و مقدار مشخص و مناسبی باشد که اسپرم بتواند از آن براحتی حرکت کند که عامل مهم در موکوس گردن غیرعادی می‌تواند به دلیل عدم تعادل هورمونها نظیر مقدار کم استروژن و یا مقدار بالای پروژسترون باشد (Goldenberg *et al.*, 1975).

۱-۱-۵- فاکتورهای رفتاری

عاداتهای شخصی و شیوهی زندگی روی سلامتی اثر دارند که خیلی از اینها ممکن است توانایی باروری زوجین را محدود کند. بسیاری از این متغیرها می‌توانند نه تنها برای شانس بارورشدن بلکه برای سلامتی خود فرد نیز خطرناک باشند. فاکتورهای رفتاری شامل ورزش و رژیم غذایی، سیگارکشیدن، الکل، داروهای مخدر، استرس می‌باشند (Honig *et al.*, 1994; Birdsall *et al.*, 1996).

۱-۱-۶- فاکتورهای محیطی و شغلی

توانایی باروری ممکن است به وسیله‌ی در معرض قرار گرفتن در برابر توکسینهای مختلف شیمیایی در محیط کار یا محیط اطراف تحت تاثیر قرار گیرد. مواردی که می‌تواند باعث موتاسیونها، نقایص تولد، سقط جنین، ناباروری یا عقیم شدن شوند که توکسین‌های تولیدمثلی نامیده می‌شوند. چهار ماده‌ی شیمیایی از این توکسین‌های خطرناک بر اساس تاثیر آنها روی باروری امروزه به اثبات رسیده‌اند که شامل سرب، مواد و داروهای شیمی‌درمانی، اتیلن اکسید، دی بروموکلروپروپان (DBCP) می‌باشند (Teitz *et al.*, 1957; Lantz *et al.*, 1981).

۱-۱-۷- فاکتورهای ژنتیکی

یکی دیگر از فاکتورهای مهم در ناباروری فاکتورهای ژنتیکی است. موتاسیونهای ژنتیکی مانند سندروم ترنر می‌تواند یک عامل ناباروری محسوب شود. همچنین موتاسیون در برخی ژنها مانند *BMPR1B* (گیرنده پروتئینی فاکتور شکل‌زایی استخوان) می‌تواند باعث اختلالات تخمدانی و هیپو گنادیسم هایپرگنادوتروپیک^۵ (پاسخ اندک گنادها به گنادوتروپین‌ها، *FSH* و *LH* و افزایش سطح گنادوتروپین‌ها) و باعث ناباروری شود. موتاسیون در ژن گیرنده فاکتور تحریک‌کننده‌ی فولیکولی (*FSHR*) نیز باعث سندروم افزایش تحریک‌کنندگی تخمدانها^۶ و هیپوگنادیسم‌های هایپرگنادوتروپیک می‌شود.

۱-۲- علل ناباروری مردان

علل ناباروری مردان می‌تواند ارثی یا اکتسابی باشد و به دو دسته‌ی حاد و مزمن تقسیم می‌شود. عوامل ژنتیکی و محیطی مختلفی می‌تواند در ناباروری مردان تاثیرگذار باشد (Gollenberg *et al.*, 2009).

⁵ Hypergonadotrophic hypogonadism

⁶ ovarian hyperstimulation syndrome

۱-۲-۱- عوامل ژنتیکی در ایجاد ناباروری بی‌شمار است و شامل اختلالات در ساختار و تعداد کروموزومها، جهش‌های نقطه‌ای و سندروم حذف کوچک کروموزوم Y^۷ است (Bhasin, 1995; Maduro, 2002).

۱-۲-۲- سندروم اختلال در تکوین بیضه (Testicular dysgenesis) نیز یک فاکتور مهم در ناهنجاریهای اسپرم و در تکوین سیستم تولیدمثلی مردان به شمار می‌آید. در این سندروم، آسیب و اختلال در طی تکوین جنینی بعداً در باروری اثرگذار می‌باشد، همچنین ممکن است عوامل ژنتیکی و محیطی نیز روی ایجاد و تشدید آن مؤثر باشند (Skakkebaek *et al.*, 2005).

۱-۲-۳- واریکوسل: یک حالتی است که رگهای بیضه‌ای واریسی ایجاد یک تومور نرم^۸ می‌کنند که در ۲۵ تا ۴۰ درصد از مردان نابارور اتفاق می‌افتد (Jarow *et al.*, 2002; Al-said *et al.*, 2008). واریکوسل اغلب همراه با آزو یا اولیگواسپرمی است و بررسی مایع منی ناهنجاریهایی را در تعداد اسپرم و شکل و فیزیولوژی آن نشان می‌دهد (Baazeem *et al.*, 2009).

۱-۲-۴- آزواسپرمی (Azoospermia): در ۱ درصد از مردان نابارور اتفاق می‌افتد (Jarow *et al.*, 2002). آزواسپرمی عدم حضور اسپرم در مایع منی می‌باشد که می‌تواند به پیش‌بیضه‌ای (Pre-testicular)، بیضه‌ای (Testicular)، پس‌بیضه‌ای (Post-testicular) تقسیم‌بندی شود.

۱-۲-۴-۱- آزواسپرمی پیش‌بیضه‌ای: این حالت حدود ۲ درصد از آزواسپرمی را شامل می‌شود. در این حالت سطح هورمون FSH کاهش می‌یابد در نتیجه تحریک کافی در بیضه‌ها و مجرای تناسلی برای تولید اسپرم ایجاد نمی‌شود.

۱-۲-۴-۲- آزواسپرمی بیضه‌ای: این حالت ۴۹ تا ۹۳ درصد از آزواسپرمی را شامل می‌شود. در آزواسپرمی بیضه‌ای، بیضه‌ها غیرعادی، لاغر یا اصلاً وجود ندارند. در این مورد، فرآیند اسپرماتوزنز در تولید اسپرم دچار مشکل می‌شود. عوامل مختلفی در ایجاد آن مانند اختلالات ژنتیکی از جمله سندروم کلاین فیلتر نقش دارد (Jarvi *et al.*, 2010).

۱-۲-۴-۳- آزواسپرمی پس‌بیضه‌ای: به عنوان یک آزواسپرمی مسدودکننده^۹ حدود ۷ تا ۵۱ درصد از آزواسپرمی را شامل می‌شود و در برگیرنده‌ی انسداد لوله‌ها و عدم تناسب در خروج مایع منی و اسپرم است. عوامل مختلفی مانند اختلالات ژنتیکی و اکتسابی و انجام وازکتومی در ایجاد آن نقش دارند (Jarow *et al.*, 2002).

۱-۲-۵- آستنوآزواسپرمی^{۱۰}: حالتی است که حرکت اسپرم غیرطبیعی است و ممکن است بخاطر نقص در اسپرماتوزنز باشد که منجر به الیگواسپرمی و تراتوزواسپرمی شود. مشکلات حرکت اسپرم یک علت عمومی از ناباروری است و می‌تواند توسط

⁷Syndrome Y chromosome microdeletion

⁸ Soft tumour

⁹ Obstructive