مکانیسم‌های مولکولی و ژن‌های درگیر در ناباروری مردان مبتلا به واریکوسل: مرور سیستماتیک

سیده نفیسه طباطبایی[1]، دکتر محمد مهدی حیدری[2*]

۱. دانشجوی دکتری ژنتیک مولکولی، پژوهشکده زیست فناوری صنعت و محیط زیست، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران.

۲. دانشیار ژنتیک مولکولی، گروه زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه یزد، یزد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۱۲ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۱/۰۳/۰۸

خلاصه

مقدمه: یکی از شایع‌ترین دلایل ناباروری مردان، ناهنجاری واریوکسل است. مردان با سابقه خانوادگی واریکوسل بیشتر در معرض خطر ابتلاء به این ناهنجاری‌ها هستند. در نتیجه عوامل ژنتیکی و مولکولی ممکن است در بیماری‌زایی واریکوسل، مرتبط با ناباروری نقش مهمی ایفا کنند. لذا مطالعه مروری حاضر با هدف بررسی ژن‌های کاندید و مکانیسم‌های مولکولی آنها و نقش ژنتیک در ابتلاء یا تشدید آن در واریکوسل انجام شد.

روش‌کار: در این مطالعه جهت یافتن مقالات مرتبط، پایگاه‌های اطلاعاتی لاتین (PubMed، Google Scholar) و فارسی (SID و Magiran) بدون محدودیت زمانی و با استفاده از کلمات کلیدی Varicocele، Male Infertility و Gene در بازه زمانی ۴ ساله مورد جستجو قرار گرفتند.

یافته‌ها: جهش یا پلی‌مورفیسم‌های ژن‌های کاندید احتمالی از جمله NOS3، hoGG1، $TNP_{1,2}$، GST، POLG، P53، MTHFR ACP1 اثرات متفاوتی بر اسپرم، اسپرماتوژنز و در کل واریکوسل دارند.

نتیجه‌گیری: تاکنون چندین ژن به‌عنوان کاندیدهای احتمالی برای وقوع و پیشرفت واریکوسل در جمعیت‌های گوناگون جهان مورد بررسی قرار گرفته است که هرکدام اثرات متنوعی بر پاتوفیزیولوژی واریکوسل نشان داده است. بنابراین صحیح یا غلط بودن فرضیه (تأثیر ژنتیک بر واریکوسل) به‌دلیل نداشتن هماهنگی شواهد و اختلاف نظر هنوز مشخص نیست.

کلمات کلیدی: پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی، ژن، ناباروری مردان، واریکوسل

* **نویسنده مسئول مکاتبات:** دکتر محمد مهدی حیدری؛ گروه زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه یزد، یزد، ایران. **تلفن:** ۰۳۵-۳۸۲۱۱۲۷۹؛ **پست الکترونیک:** heidarimm@yazd.ac.ir

مقدمه

واریکوسل، شایع‌ترین علت قابل درمان ناباروری در مردان می‌باشد که شیوع آن در مردان نابارور ۴۰-۲۰٪ به‌عبارتی ۳ مرتبه بیشتر از جمعیت افراد عادی می‌باشد (۱). واریس به زبان ساده، گشاد شدن سیاهرگ‌ها و خراب شدن دریچه‌های آنها است. این مسأله باعث عدم توانایی سیاهرگ‌ها در انتقال مطلوب خون به سمت قلب می‌شود. خون جمع شده در سیاهرگ‌ها، به‌تدریج باعث گشاد شدن این رگ‌ها شده، واریس و درد را به‌وجود می‌آورد. بنابراین هرجا که سیاهرگی وجود داشته باشد، احتمال بروز واریس هم وجود دارد. یکی از این بافت‌ها، بیضه است. شبکه‌ای از وریدهای در هم پیچیده در قسمت فوقانی هر بیضه وجود دارد که تحت عنوان شبکه پامپینیفورم[1] نام‌گذاری شده است. اگر به هر دلیل این سیاهرگ‌ها دچار اختلال شوند، واریس سیاهرگ‌های بیضه به‌وجود می‌آید که به آن واریکوسل گفته می‌شود. در واقع واریکوسل، اتساع و پیچ‌خوردگی غیرطبیعی شبکه وریدی (سیاهرگی) بالای بیضه‌ها است (۲، ۳).

اصطلاح بالینی واریکوسل به واریکوسل قابل شناسایی در هنگام لمس یا بازرسی بصری اطلاق می‌شود. واریکوسل به‌طور کلاسیک به‌عنوان احساسی مانند "کیسه‌ای از کرم‌ها" توصیف می‌شود که با مانور والسالوا[2] (زمانی که نفس حبس شود و فشار درون شکمی و سینه از طریق انقباض عضله‌های شکم و عضله‌های تنفسی افزایش یابد) افزایش یافته و از حالت فشار خارج می‌شود. واریکوسل‌ها به‌طور معمول با توجه به یافته‌های معاینه فیزیکی و اندازه آنها در مقیاس ۳-۱ درجه‌بندی می‌شوند (جدول ۱). در صورت عدم جواب با معاینه فیزیکی، اقدامات اضافی مانند سونوگرافی اسکروتوم می‌تواند انجام شود (۴).

جدول ۱- درجه‌بندی واریکوسل (۵)

درجه	توصیف
تحت بالینی	فقط با سونوگرافی تشخیص داده می‌شود.
درجه ۱	قابل لمس با مانور والسالوا (کوچک)
درجه ۲	قابل مشاهده با مانور والسالوا (متوسط)
درجه ۳	قابل مشاهده در حالی که بیمار ایستاده است (بزرگ)

شیوع واریکوسل

شیوع واریکوسل با افزایش سن بیشتر می‌شود. با وجود اینکه واریکوسل در پسران جوان ۱۰ ساله قابل تشخیص است، اما معمولاً اعتقاد بر این است که این وضعیت در حدود سن ۱۵ سالگی و با بلوغ آغاز می‌شود. شیوع واریکوسل در نوجوانان، تقریباً ۷٪ است (۶). در یک جمعیت کلی، میزان بروز در میان افراد عادی به حدود ۲۲/۶-۴/۴٪ می‌رسد. درحالی‌که بروز آن در جمعیت مردان نابارور، به رقمی متفاوت، ۴۱-۲۱٪ در مردان با ناباروری اولیه و ۸۱-۷۵٪ در افراد با ناباروری ثانویه می‌رسد (۷). همچنین واریکوسل در ۱۳/۳-۴/۳٪ افراد مبتلا به آزواسپرمیا یا الیگواسپرمیای شدید یافت می‌شود (۸).

اطلاعات تجربی نشان می‌دهد که شیوع واریکوسل در مردان ضعیف و لاغر بیشتر است. قد بلند با پیشروی واریکوسل همراه است، درحالی‌که واریکوسل با شاخص توده بدنی (اضافه وزن) رابطه عکس دارد. فرضیه بیان می‌کند که قد بلند یا رشد سریع در بلوغ، زاویه شریان مزانتریک فوقانی با آئورت را کاهش داده و بنابراین فشرده‌سازی در ورید کلیوی چپ را افزایش می‌دهد، درحالی‌که افزایش بافت چربی می‌تواند این اثر را کاهش دهد (۴). همچنین عنوان شده است، واریکوسل از یک الگوی وراثتی پیروی می‌کند؛ چراکه شیوع آن در خویشاوندان درجه ۱ فرد مبتلا بیشتر است. تمرینات سخت طولانی‌مدت (روزانه ۴-۲ ساعت، ۵-۴ مرتبه در هفته، طی ۴ سال) سبب بدتر شدن کیفیت منی در مردان مبتلا به واریکوسل می‌شود (۷). در مطالعه‌ای که توسط سازمان بهداشت جهانی انجام شد، مشخص شد که شیوع واریکوسل از نظر جغرافیایی، در جمعیت‌های مختلف متفاوت بوده و بین ۴۷-۶٪ متغیر است (۹).

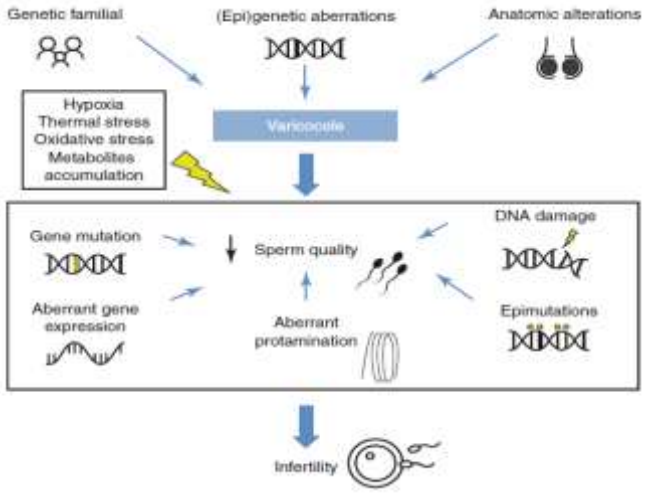
[1] Pampiniform Plexus
[2] Valsalva manoeuvre

انواع واریکوسل و مشکلات مرتبط

واریکوسل هم می‌تواند به‌صورت یک‌طرفه[1] (در یکی از بیضه‌ها) و هم به‌صورت دوطرفه[2] (در هر دو بیضه) ایجاد شود، اما فراوانی آنها یکسان نیست؛ چراکه شیوع آن به‌صورت یک‌طرفه و در بیضه راست ۷-۱٪ و به‌صورت دوطرفه ۲۰-۲٪ گزارش شده است. به‌دلیل اختلاف در ساختار آناتومیکی وریدهای اسپرماتیک بیضه چپ و راست، اختلاف در الگوی تخلیه وریدها و طولانی‌تر بودن ورید اسپرماتیک چپ، شیوع این بیماری در سمت چپ (۹۳-۷۸٪) بیشتر از راست می‌باشد (۱۰).

واریکوسل ممکن است بدون علامت باشد یا می‌تواند با درد مبهم، دردناک یا ضربان‌دار در کیسه بیضه همراه باشد. همچنین به احتمال زیاد آتروفی بیضه و از دست دادن توده سلول‌های زایشی به‌دلیل افزایش دمای کیسه بیضه نیز مشاهده می‌شود (۴).

مکانیسم پاتوفیزیولوژیکی که منجر شده است برخی افراد مبتلا به واریکوسل نابارور شوند، هنوز به‌طور کامل مشخص نشده است. به‌نظر می‌رسد اختلال در محیط بیضه‌ها مانند افزایش دما، هیپوکسی، استرس اکسیداتیو، عدم تعادل هورمونی و تجمع متابولیت‌های سمی، در افراد مبتلا به واریکوسل رخ می‌دهد (۱۱). عابدی و همکاران (۲۰۲۰) یکی از اصلی‌ترین دلایل مولکولی واریکوسل که منجر به ناباروری می‌شود را تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)[3] می‌دانند. اعتقاد بر این است که هیپوکسی (کمبود اکسیژن) مهم‌ترین محرک ROS می‌باشد (۱۲). این تغییرات ممکن است بر اسپرماتوژنز تأثیر بگذارد و به‌دلیل تغییرات ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی منجر به کیفیت پایین مایع منی شود، زیرا روند رشد سلول‌های زایا توسط هر دو مکانیسم تنظیم می‌شود (شکل ۱). با وجود شناسایی این مکانیسم‌ها نیز هنوز نمی‌توان به‌طور کامل اثر واریکوسل بر اسپرماتوژنز را فهمید (۱۳، ۱۴).



شکل ۱- عوامل زیادی ممکن است در ایجاد واریکوسل نقش داشته باشند، مانند اثرات ژنتیکی فامیلی، اختلالات پراکنده ژنتیکی یا اپی‌ژنتیکی و ناهنجاری آناتومیک مادرزادی. افزایش دما، استرس اکسیداتیو، هیپوکسی و تجمع متابولیت‌ها که با تغییرات ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی تشدید می‌شود، ممکن است به کاهش کیفیت اسپرم و ناباروری کمک کند (۱۴).

ناباروری هنوز هم مسئله اصلی اورولوژیست‌های باروری است که از بیماران مبتلا به واریکوسل مراقبت می‌کنند. برای شناسایی جوانان (و احتمالاً نوجوانان) که واریکوسل در آنها به عملکرد بیضه و باروری آسیب می‌رساند و مداخله زودهنگام برای آنها مفید است، به مارکرهای معتبری نیاز است. کاملاً اثبات شده است که واریکوسل عمدتاً از طریق آسیب گرمایی و استرس اکسیداتیو می‌تواند به عملکرد و باروری بیضه آسیب برساند. با این حال، چرا این بیماری از راه‌های مختلف باروری هر فرد را تحت تأثیر قرار می‌دهد، هنوز به‌طور

[1] Unilateral
[2] Bilateral
[3] Reactive Oxygen Species

کامل مشخص نشده است. علاوه بر این، زمینه دقیق ژنتیکی واریکوسل خانوادگی و اینکه آیا عوامل ژنتیکی زمینه را برای بروز واریکوسل افزایش می‌دهند یا نه، ناشناخته است. تعدد فنوتیپ‌های مرتبط با واریکوسل نشان‌دهنده یک اختلال پیچیده چندعاملی است که به‌نظر می‌رسد عوامل ژنتیکی، اپی‌ژنتیکی و محیطی نقشی تعیین کننده‌ای در آن دارند (۱۵).

عوامل ژنتیکی درگیر در واریکوسل و پیشینه مطالعه

اسپرماتوژنز، فرآیندی اساسی در تعیین باروری مردان می‌باشد که توسط چندین ژن به شدت تنظیم می‌شود. توانایی باروری مردان مبتلا به واریکوسل بسیار متغیر است. فنوتیپ‌های بالینی مختلفی مشاهده شده است که ممکن است منجر به باروری و یا عقیم شدن افراد شود. این تنوع فنوتیپی، عامل ژنتیکی مرتبط ناشناخته‌ای را نشان می‌دهد که صرف نظر از شدت بیماری، باروری را به خطر می‌اندازد (۱۶). در سال‌های اخیر مطالعات زیادی در ارتباط با ژنتیک واریکوسل انجام شده است تا ماهیت ژنتیکی واریکوسل مشخص شود. به‌عنوان مثال ارتباط واریکوسل با تغییرات بیان ژنی[1] و اپی‌ژنتیکی[2] بررسی شده است. مردان نابارور مبتلا به واریکوسل، پروتئین‌های مرتبط با ساختار و عملکرد میتوکندری اسپرم را به‌طور متفاوتی نسبت به افراد بارور بیان می‌کنند که نشان می‌دهد اختلال عملکرد میتوکندری اسپرم (به‌عنوان مثال گونه‌های اکسیژن فعال اضافی و کاهش سنتز ATP) در پاتوفیزیولوژی واریکوسل نقش دارد (۱۷). همچنین تغییرات متیلاسیون، به‌ویژه هیپومتیلاسیون، ممکن است کیفیت اسپرم مردان مبتلا به واریکوسل را کاهش دهد و در نهایت منجر به ناباروری شود (۱۸).

اختلال عملکرد میتوکندری ناشی از جهش‌های mtDNA و آسیب‌های اکسیداتیو، یکی از دلایل مهم اکثر انواع ناباروری مانند واریکوسل است. تغییرات mtDNA ممکن است در اسپرماتیدها یا در طول گامتوژنز تجمع یافته و در نتیجه عملکرد تنفسی و تحرک اسپرم‌ها را مختل کند. با توجه به این موضوع حیدری و همکاران (۲۰۱۶) به بررسی ۹ ژن میتوکندریایی و واریانت‌های آنها در ۷۲ مرد مبتلا به واریکوسل پرداختند و بیان کردند تعدادی از این واریانت‌ها ممکن است با بیماری‌زایی واریکوسل همراه باشد (۱۹).

ریزحذف‌های کروموزوم Y، دومین علت ژنتیکی شایع در ناباروری مردان می‌باشد، بنابراین دی سوسا فیلهو و همکاران (۲۰۱۸) به بررسی فراوانی ریزحذف‌های کروموزوم Y در ۵۱ مرد مبتلا به واریکوسل پرداختند. فراوانی ریزحذف‌های کروموزوم Y در مردان نابارور مبتلا به واریکوسل ۳/۹٪ بود. این فراوانی با مردان نابارور فاقد واریکوسل تفاوتی نداشت، در نتیجه بیان کردند هر دو، واریکوسل و ریزحذف‌های کروموزوم Y به‌تنهایی یا ترکیبی، می‌توانند از عوامل اتیولوژیکی ناباروری مردان باشند (۲۰).

علاوه بر موارد ذکر شده، ارتباط واریکوسل با تغییرات کروموزوم‌های سوماتیکی، تکه‌تکه شدن DNA اسپرم، تغییرات کروموزومی اسپرم، جهش‌ها و پلی‌مورفیسم‌های درگیر در واریکوسل نیز بررسی شده است که در این مطالعه به تفضیل اثرات ژن‌ها و پلی مورفیسم‌های درگیر در واریکوسل برررسی می‌شود (۱۶).

شایع‌ترین بیماری که موجب ناباروری در مردان می‌گردد، واریکوسل است. افزایش دما و استرس‌های دمایی و اکسایشی، موجب افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن، افزایش آپوپتوز در بافت بیضه، اسپرم‌هایی با مورفولوژی غیرطبیعی و کاهش جنبندگی اسپرم‌ها در مردان مبتلا به واریکوسل می‌شود. بنابراین جمع این عوامل می‌تواند منجر به ناباروری در افراد مبتلا به واریکوسل شود (۲۱).

برخی مطالعات انجام شده بر روی خویشاوندان درجه ۱ افراد مبتلا به واریکوسل به وضوح نشان می‌دهد که شیوع بیماری در برادران و پدران فرد مبتلا نسبت به جمعیت عمومی، افزایش ۸-۳ برابری دارد (۲۲). بنابراین ممکن است در حقیقت عوامل ژنتیکی و

[1] Gene expression
[2] Epigenetics

مولکولی در بیماری‌زایی افراد نابارور مبتلا به واریکوسل، دخالت دارند.

در سال‌های اخیر این پیشنهاد مطرح شده است که آیا واریکوسل از یک الگوی وراثت احتمالی پیروی می‌کند و عوامل ژنتیکی در بروز آن نقش دارند؟ آیا واریکوسل همراه با ناباروری به‌دلیل عوامل ژنتیکی روی می‌دهد؟ واریانت‌های غالب ژن‌های کاندید در ایجاد و پیشرفت واریکوسل دخالت دارند؟ آیا در همه جمعیت‌ها یک واریانت خاص و مشخص در بروز واریکوسل دخالت دارد؟ آیا می‌توان به‌طور قطع از تأثیر ژن‌ها در روند ایجاد و پیشرفت واریکوسل نام برد؟ بنابراین برای پاسخ به این سؤالات، مطالعه مروری حاضر با هدف بررسی ژن‌های مختلف و پلی‌مورفیسم‌های شایع آن در جمعیت‌های مختلف مردان نابارور مبتلا به واریکوسل انجام شد.

روش‌کار

در این مطالعه مرور سیستماتیک جهت یافتن مقالات مرتبط، پایگاه داده‌های لاتین علوم پزشکی از جمله Google Scholar و Pubmed محدود به زبان انگلیسی و بدون محدودیت زمانی با رعایت معیارهای ورود و خروج با استفاده از کلیدواژهای MeSHشامل: ناباروری مردان (Male infertility)، واریکوسل (Varicocele)، پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی (Single Nucleotide Polymorphism) و پایگاه‌های داده فارسی از جمله پایگاه اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی SID و پایگاه اطلاعات نشریات کشور Magiran به زبان فارسی و انگلیسی، بدون محدودیت زمانی با کلمات کلیدی "واریکوسل و جهش و پلی‌مورفیسم" و عبارت مورد استفاده "مردان نابارور مبتلا به واریکوسل و پلی‌مورفیسم ژنی" در بازه زمانی ۴ ساله از سال ۱۳۹۶ تا پایان سال ۱۳۹۹ مورد جستجو قرار گرفتند.

معیارهای ورود در این مطالعه منابع چاپ شده (مقاله یا کتاب) تا سال ۲۰۲۱ شامل: (مقالات مروری، مقالات اصیل پژوهشی به زبان فارسی و انگلیسی و همچنین کتاب‌های فارسی و انگلیسی با موضوع واریکوسل و ناباروری) می‌باشد.

۱- مقالات مروری برای مقدمه مقاله، با محتوای واریکوسل که در مجموع ۵۸۹۰ نتیجه از پایگاه داده‌ها یافت شد که با محدود کردن موضوع "واریکوسل و ناباروری مردان" تعداد نتایج به ۲۶۶۴ مقاله رسید. به‌همین ترتیب موضوع مورد جستجو با کلمه کلیدی Review محدودتر شد و به ۵۲۳ نتیجه رسید. مقالات پس از بررسی عنوان، در مرحله بعد از نظر ارتباط چکیده با هدف مورد نظر ارزیابی شدند.

علاوه بر این کلیدواژه موردنظر محدودتر شد و عبارت مورد استفاده "پاتوفیزیولوژی واریکوسل و ناباروری مردان و مروری" جستجو شد که ۱۲۳ نتیجه یافت شد و همچنین عبارت مورد استفاده "مکانیسم ژنتیکی واریکوسل و ناباروری مردان و مروری" جستجو شد که ۱۴ مقاله یافت شد (شکل ۲).

شکل۲- فلوچارت انتخاب مقالات مروری

۲- مقالات اصیل پژوهشی برای ژن‌های درگیر در واریکوسل که با عبارت مورد جستجوی " Mutation AND Polymorphism in varicocele" جستجو شد که ۱۵ نتیجه یافت شد و از بین آنها هر مقاله اصیل پژوهشی که در ارتباط با ژن خاصی در ارتباط با واریکوسل بود، انتخاب گردید و همچنین عبارت‌های مورد استفاده برای جستجو محدودتر گردید و سعی شد اکثر مقالاتی که به زبان انگلیسی و فارسی در ارتباط با ژن خاص در بیماری‌زایی واریکوسل درگیر بودند و مورد مطالعه قرار گرفته شدند، در اینجا گردآوری شوند.

۳- کتاب‌های چاپ شده با موضوع واریکوسل و ناباروری به زبان انگلیسی بود.

معیارهای خروج مقالات از مطالعه شامل: عدم ارائه متن کامل مقاله، مقالات با متن کامل غیرفارسی و انگلیسی زبان، مقالات با کیفیت پایین و عدم ارتباط مقالات با موضوع مرور سیستماتیک بودند.

یافته‌ها

تنوع ژنی به‌طور طبیعی رخ می‌دهد و می‌تواند به‌صورت پراکنده یا ارثی باشد. این تغییرات ممکن است پیامدهای عملکردی بر روی محصولات ژن مانند جهش‌های نامترادف[1] داشته باشد یا توالی اسید آمینه تولید شده (جهش هم‌معنی) را ترمیم نکنند. اگر فراوانی تنوع ژنتیکی در بیش از ۱٪ از جمعیت رخ دهد، به آن پلی‌مورفیسم گفته می‌شود. این تغییرات مانند پلی‌مورفیسم‌ها و جهش‌ها، مربوط به ناباروری مردان است و ممکن است مستقیماً بر اسپرماتوژنز تأثیر بگذارد (۱۴). تا سال ۲۰۲۱ چندین مطالعه تلاش کردند تا نقش پلی‌مورفیسم‌های مختلف در فنوتیپ مردان نابارور مبتلا به واریکوسل را به‌عنوان یک فاکتور ژنتیکی، روشن سازند (جدول ۲) که در ادامه به بررسی و نتایج حاصل از این مقالات می‌پردازیم.

جدول ۲- جهش‌های ژنی و پلی‌مورفیسم‌هایی که در مردان مبتلا به واریکوسل مشاهده شده است

ژن	ژنوتیپ	پیامد	سن افراد/ درجه بیماری	نویسنده/ سال/ رفرنس
GST	GSTM1 null	افزایش حساسیت به آسیب اکسیداتیو	۳۶ سال/ مرحله بالینی	چن و همکاران/ (۲۰۰۱)/ (۲۶)
			سن مشخص نیست/ درجه بیماری ۱، ۲، ۳	آکار و همکاران/ (۲۰۱۲)/ (۲۹)
	GSTT1 null		سن و درجه بیماری مشخص نیست.	وو و همکاران/ (۲۰۰۹)/ (۲۷)
			سن مشخص نیست/ درجه بیماری ۱، ۲، ۳	آکار و همکاران/ (۲۰۱۲)/ (۲۹)
hOGG1	Cys/Cys null	بدترین نتایج تجزیه و تحلیل اسپرم	۳۷-۲۱ سال/ درجه بیماری مشخص نیست	چن و همکاران/ (۲۰۱۸)/ (۳۲)
TNP1	SNP	تراکم غیرطبیعی کروماتین اسپرم	۲۸ سال/ درجه بیماری ۱، ۲، ۳	حیدری و همکاران/ (۲۰۱۴)/ (۳۳)
TNP2	g.IVS1-26G >C (rs8043625)			حیدری و همکاران/ (۲۰۱۹)/ (۳۴)
NOS3	Lower 4a4b and higher G894T	اختلال در تولید اندوتلیالی NO	۲۸ سال/ درجه بیماری ۱، ۲، ۳	کهرمان و همکاران/ (۲۰۱۶)/ (۳۵)
	T-786C و 4a4b	تفاوت معنی‌داری بین افرادکنترل و بیمار وجود ندارد	سن و درجه بیماری مشخص نیست	طباطبایی و همکاران/ (۲۰۲۰)/ (۳۶)
MTHFR	A1298C	تنظیم زدایی متیلاسیون[2]	۲۷ سال/ درجه بیماری ۱، ۲، ۳	اوکار و همکاران/ (۲۰۱۵)/ (۳۷)
ACP1	B*/C*	کاهش غلظت اسپرم و افزایش مورفولوژی غیر طبیعی	۲۷ سال/ درجه بیماری ۱، ۲، ۳	جنتیل و همکاران/ (۲۰۱۴)/ (۳۸)
P53	Arg*/Arg*	فعالیت پیش آپوپتوزی[3]	۳۳ سال/ درجه بیماری مشخص نیست	جنتیل و همکاران/ (۲۰۱۵)/ (۳۹)
POLG	تکرارهای CAG	تأثیر بر درجه واریکوسل	۲۸ سال/ درجه بیماری ۱، ۲، ۳	حیدری و همکاران/ (۲۰۱۲)/ (۴۰)
PRM	SNP	تولید اسپرم با نقص بیشتر در پروتامین	۳۱ سال/ درجه بیماری ۱، ۲، ۳	نیری و همکاران/ (۲۰۲۰)/ (۴۱)

[1] Non- Synonymous Mutations
[2] Deregulate methylation
[3] Proapoptotic activity

ژن GST

یکی از سیستم‌های دفاعی علیه آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو در مایع منی و اسپرم انسان، خانواده آنزیمی گلوتاتیون Sترانسفراز (GST[1]) می‌باشد. آنزیم گلوتاتیون S ترانسفراز خانواده بزرگی از آنزیم‌های فاز II می‌باشد که در سم‌زدایی ترکیبات خارجی زیستی[2] نقش دارد. در مطالعات متعددی وجود آنزیم گلوتاتیون S ترانسفراز فعال در سطح اسپرم تأیید شده است. خانواده GST برای حفاظت از سلول‌ها در مقابل استرس اکسیداتیو ضروری می‌باشند، زیرا به‌عنوان سوبسترا برای محدوده زیادی از محصولات استرس اکسیداتیو استفاده می‌شوند (۲۳).

GSTها در حال حاضر در ۸ دسته جداگانه شامل: آلفا، مو، کاپا، امگا، پی، سیگما، تتا و زتا طبقه‌بندی می‌شوند که به‌ترتیب توسط ژن‌های GSTA، GSTM، GSTK، GSTO، GSTP، GSTS، GSTT و GSTZ کدگذاری می‌شوند. سه ژن GST یعنی GSTP1، GSTM1 وGSTT که به‌ترتیب کدکننده آنزیم‌های GST در دسته‌های مو، تتا و پی هستند، دارای پلی‌مورفیسم‌های عملکردی هستند که این پلی‌مورفیسم‌ها به فراوانی در جمعیت‌های بشری مشاهده می‌شوند (۲۴). پلی‌مورفیسم‌های لوکوس ژنی GSTT1 وGSTM1 که به‌ترتیب روی کروموزم ۲۲ و ۱ قرار دارند، در اثر حذف ژنی ایجاد شده و منجر به عدم وجود فعالیت آنزیمی به‌ویژه در افرادی که در هر دو ژن جهش حذفی را دارند (ژنوتیپ‌های خنثی)، می‌شوند. ژن‌های کلاس GSTM به‌صورت یک خوشه ژنی متشکل از ژن‌های GSTM1 تا GSTM5 در ناحیه کروموزمی 1p13.3 قرار گرفته‌اند (۲۳). در ژن GSTP1 دو نوع تنوع ژنتیکی گزارش شده است، تبدیل ایزولوسین (Ile) به والین (Val) در کدون ۱۰۵ و جاینشینی آلانین به والین در کدون ۱۱۴ منجر به تفاوت قابل توجهی در فعالیت کاتالیزوری می‌شود (۲۴).

در بافت‌های بیضه GSTA، GSTM، GSTT و GSTP به‌عنوان عوامل محافظتی مهمی در برابر استرس اکسیداتیو عمل می‌کنند. حساسیت بیماران مبتلا به واریکوسل به ROS ممکن است به‌دلیل یک یا چند مورد از پلی‌مورفیسم‌های ژنی GST باشد. از آنجایی که GST برای باروری مردان مهم است و عملکرد نامناسب آنها در اختلال اسپرماتوژنز نقش دارد، پلی‌مورفیسم‌های حذف GSTM1 یا GSTT1 ممکن است به ناباروری مردان مربوط باشد (۲۵). ژنوتیپ GSTM1 می‌تواند زمینه‌ساز افزایش آسیب اکسیداتیو به اسپرم بیمار مبتلا به واریکوسل باشد (۲۶). همچنین در مطالعه وو و همکاران (۲۰۰۹)، نتایج نشان داد آسیب اکسیداتیو ممکن است علت ناباروری در بیماران مبتلا به واریکوسل باشد و ژنوتیپ خنثی GSTT1 زمینه ایجاد آسیب اکسیداتیو به اسپرماتوزوآ در بیماران نابارور مبتلا به واریکوسل را فراهم می‌کند (۲۷).

تانگ و همکاران (۲۰۱۲) مشاهده کردند که در مردان نابارور مبتلا به واریکوسل، غلظت و تحرک اسپرم در کسانی که دارای ژنوتیپ‌های خنثی GSTM1، GSTT1 یا GSTM1/T1 هستند، وخیم‌تر است. در بیماران مبتلا به واریکوسل فراوانی ۴۷/۷٪ برای آلل خنثی GSTM1 و ۴۴/۶٪ برای آلل خنثی GSTT1 گزارش کردند، در حالی‌که در افراد شاهد، این فراوانی‌ها به‌ترتیب ۴۳/۳٪ و ۵۰٪ بود (۲۸). نتایج مشابهی در مطالعه آکار و همکاران (۲۰۱۲) گزارش شد. مردان با درجه واریکوسل بالاتر، از این دو پلی‌مورفیسم فراوانی بیشتری نسبت به افراد شاهد نشان دادند. با این حال، تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود (۲۹). همچنین گزارش شده است که این تغییرات ژنتیکی می‌تواند بر نتیجه واریکوسلکتومی در افراد با آلل جهش یافته ژن GSTT1 تأثیر منفی بگذارد (۳۰).

ژن hOGG1

ژن ۸- اگزوگوآنین گلیکوزیلاز ۱ انسانی (hOGG1)[3]، واقع در کروموزوم 3p26، یکی از اجزای مسیر پاسخ برش‌بازی است و نقش مهمی در ترمیم DNA آسیب دیده دارد. hOGG1 کدکننده یک آنزیم DNA گلیکوزیلاز می‌باشد که به‌طور فعال ۸-هیدرو-۲-

[1] Glutathione S-Transferase
[2] xenobiotics
[3] human 8-Oxoguanine Glycosylase 1

دئوکسی گوانین را از بین می‌برد که بسیار جهش‌زا است و شکل عمده‌ای از آسیب DNA اکسیداتیو است. یکی از پلی‌مورفیسم شایع در ژن hOGG1، rs1052133 است (همچنین به‌عنوان پلی‌مورفیسم Ser326Cys نیز شناخته می‌شود) که به جای سرین، سیستئین در اسیدآمینه ۳۲۶ پروتئین hOGG1 قرار می‌گیرد (۳۱).

ژنوتیپ خنثی Cys/Cys ژن ۸- اگزوگوآنین DNA گلیکوزیلاز ۱ (hOGG1) در مردان مبتلا به واریکوسل با فراوانی بالاتری وجود دارد و ۸- هیدروکسی دئوکسی گوانوزین نشانگر حساسی برای آسیب DNA اکسیداتیو است که در اثر گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در سلول‌های اسپرم انسان ایجاد می‌شود. علاوه بر این، مردان مبتلا به واریکوسل و ژنوتیپ خنثی Cys /Cys دارای بدترین نتایج تجزیه و تحلیل منی هستند که در بیماران مبتلا به واریکوسل تحت بالینی مشاهده نمی‌شود. به‌نظر می‌رسد ژنوتیپ hOGG1 Cys /Cys باعث افزایش سطح آسیب اکسیداتیو و کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسمای منی در بیماران مبتلا به واریکوسل می‌شود که ممکن است منجر به بروز بالاتری از ناباروری در مردان شود (۳۲).

ژن TNP

TNP[1]ها، نوکلئوپروتئین‌های اسپرمی هستند که تحت عنوان پروتئین‌های انتقال هسته‌ای نام‌گذاری می‌شوند. با وجود اینکه در مردان ۴ نوع پروتئین TNP بیان می‌شود، ولی TNP1 و TNP2 اصلی‌ترین این پروتئین‌ها هستند و حدود ۹۰٪ از پروتئین‌های کروماتین را طی مراحل حذف هیستون‌ها و جایگزینی پروتئین‌های انتقالی تشکیل می‌دهند. TNPها پروتئین‌های غنی از آرژینین[2] و لیزین[3] هستند و خاصیت بازی حد واسطی دارند (۴۲).

TNP1 یک پروتئین ۶/۲ کیلودالتونی است و ۵۴ اسیدآمینه دارد که حدود ۲۰٪ آنها آرژینین، ۲۰٪ لیزین و مابقی سرین[4] و هیستیدین[5] هستند. این اسیدآمینه‌ها به‌طور یکسان در ساختار این پروتئین پخش شده‌اند، ولی هیچ سیستئینی[6] در آن وجود ندارد (۴۳). این امر باعث می‌شود که DNA خیلی محکم به این پروتئین‌ها نچسبد و در نتیجه این DNA به‌منظور انجام مراحل بعدی راحت‌تر از این پروتئین‌ها جدا خواهد شد. عملکردهای احتمالی پروتئین TNP1 شامل آزادسازی DNA در ذرات هسته‌ای نوکلئوزوم‌ها، کاهش دمای ذوب DNA و تحریک فعالیت توپوایزومراز I است (۴۴).

TNP2 یک پروتئین ۱۳ کیلودالتونی است و از ۱۱۷- ۱۳۸ اسیدآمینه تشکیل شده است و شامل ۱۳٪ پرولین[7]، ۲۲٪ سرین، ۱۴٪ آرژینین، ۹٪ لیزین و ۵٪ سیستئین است. همچنین این پروتئین یک دومین انگشت روی[8] در انتهای N-ترمینال خود و اسیدآمینه‌های بازی در انتهای C-ترمینال دارد که برای شناسایی جزایر CpG در ژنوم ضروری است.

پروتئین‌های TNP1 و TNP2 توسط ژن‌های Tnp1 و Tnp2 کد می‌شوند. ژن Tnp1 به‌صورت مجزا از Tnp2 و روی بازوی بلند کروموزوم ۲ قرار گرفته است، درحالی‌که ژن Tnp2، در یک خوشه ژنی روی کروموزوم ۱۶ و در کنار دو ژن پروتامین قرار دارد (۴۲). برخلاف TNP1، TNP2 می‌تواند فشردگی DNA را در هسته نوکلئوزومی افزایش دهد و در نتیجه دمای ذوب DNA افزایش می‌یابد. مطالعات نشان داده است که TNP1 یک پروتئین شل‌کننده DNA است، درحالی‌که TNP2 یک پروتئین فشرده‌کننده DNA است. همچنین مشخص شده است که توالی ژن Tnp1 در پستانداران مختلف به شدت حفاظت شده است، درحالی‌که توالی Tnp2 حفاظت شدگی کمتری دارد. پروتئین‌های TNP1 و TNP2 مکمل یکدیگرند و هر دو برای فشردگی نرمال کروماتین، کاهش شکست‌های DNA، جلوگیری از ایجاد نقص‌های ثانویه در اسپرم و در نهایت جلوگیری از نقص در توالی DNA و ناباروری مورد نیازند (۴۵).

[1] Transition Nuclear Protein
[2] Arginine
[3] Lysine
[4] Serine
[5] Histidine
[6] Cysteine
[7] Proline
[8] Zinc finger

جهش دیگری که در مردان مبتلا به واریکوسل یافت می‌شود، مربوط به ژن انتقال پروتئین هسته‌ای (TNP) است. در سلول‌های اسپرم، در هنگام بازآرایی کروماتین، هیستون‌ها با پروتامین جایگزین می‌شوند، زیرا کمپلکس DNA-پروتامین پایدارتر است. این پروتئین‌ها یکپارچگی DNA را در سر اسپرم حفظ می‌کنند، بنابراین از آن در برابر حملات عوامل برون‌زا و درون‌زا محافظت می‌کنند. مرحله اول در اسپرماتیدهای گرد اتفاق می‌افتد و شامل جایگزینی هیستون‌ها با TNP1 و TNP2 است که در مرحله بعدی با پروتامین جایگزین می‌شوند (۱۶).

ساختار بسیار متراکم کروماتین هسته‌ای اسپرم با بیان مناسب ژن‌های پروتئین انتقال هسته‌ای (TNP) فراهم می‌شود، بنابراین هرگونه بیان نامنظم این ژن‌ها منجر به اسپرماتوژنز غیرطبیعی و ناباروری می‌شود. پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNP) در ژن‌های TNP با آسیب DNA در بیماران مبتلا به آزواسپرمیا همراه است که باعث ناباروری می‌شود. حیدری و همکاران (۲۰۱۴) در افراد مبتلا به واریکوسل جایگزینی، بازی جدیدی در منطقه اینترونی ژن TNP1 در موقعیت .g.IVS1+75T>C پیدا کردند. اگرچه این نتایج بحث‌برانگیز است، اما این نتایج نشان می‌دهد که این SNP ممکن است به ناباروری در این بیماران مرتبط باشد. اعتقاد بر این است که پروتئین TNP معیوب باعث متراکم شدن غیرطبیعی کروماتین اسپرم، افزایش تعداد شکستگی DNA اسپرم و عدم تحرک اسپرم می‌شود (۳۳).

در مطالعه دیگر حیدری و همکاران (۲۰۱۹) که در ژن TNP2 در افراد مبتلا به واریکوسل انجام گرفت، دو جهش بدمعنی[1] شامل (c.301C>T(rs34904070 و (c.391C>T(rs11640138 که به‌ترتیب به معنی تبدیل آرژنین به سیستئین در موقعیت ۱۱۰ (p.R101C) و تبدیل آرژنین به تریپتوفان در موقعیت ۱۳۱ (p.R131 W) می‌باشند را پیدا کردند، ولی تفاوت معنی‌داری از لحاظ فراوانی ژنوتیپی یا آللی بین افراد کنترل و مبتلا به واریکوسل پیدا نکردند. علاوه بر این، آنها در منطقه اینترونی ژن TNP2 افراد مبتلا به واریکوسل و افراد شاهد، SNP دیگری g.IVS1-26G>C (rs8043625) شناسایی کردند که از لحاظ فراوانی ژنوتیپی و آللی تفاوت معناداری بین افراد کنترل و مبتلا به واریکوسل داشت. همچنین تجزیه و تحلیل هاپلوتیپ، ترکیبی از تغییرات ژنتیکی را نشان می‌دهد که در بیماران مبتلا به واریکوسل در مقایسه با گروه کنترل با افزایش خطر همراه است. همچنین به‌دلیل حفاظت بالای موقعیت این SNP در طی تکامل، این SNP ممکن است در برخی از فرآیندهای مهم مرتبط با بیان این ژن مانند پیرایش mRNA نقش داشته باشد، اما مکانیسم دقیق آن روشن نیست (۳۴، ۴۶).

این یافته‌ها نشان می‌دهد که این SNP در بیماران مبتلا به واریکوسل ممکن است در پیرایش اینترون تأثیر بگذارد و باعث ناباروری در بیماران مبتلا به واریکوسل شود، اما اثرات دقیق مولکولی این پلی‌مورفیسم بر وضعیت واریکوسل هنوز بحث‌برانگیز است. تحقیقات بعدی با استفاده از مطالعات پیوند SNP در شجره‌نامه و جمعیت بیشتری از مردان نابارور باید ارتباط سببی بین پلی‌مورفیسم‌های ژن TNP2 و ناباروری مردان را تأیید کند (۳۴).

ژن NOS3

ژن نیتریک اکسید سنتاز اندوتلیایی (eNOS) یا NOS3[2]، یکی از سه ایزوفرم ژن نیتریک اکسید سنتاز NOS می‌باشد. این ژن در سال ۱۹۹۳ کلون شد و مشخص گردید که جایگاه ژنی آن در کروموزوم 7q35-36 قرار گرفته است و 21kb از DNA ژنومی کروموزوم ۷ را به خود اختصاص داده است. این ژن دارای ۲۹ اگزون است و mRANای با ۴۰۵۲ نوکلئوتید (فقط یک کپی در ژنوم انسان) و پروتئینی با وزن مولکولی ۱۳۵ کیلودالتون با ۱۲۰۳ اسیدآمینه کد می‌کند. پروتئین NOS3 با حداکثر توان طی واکنشی که طی آن L- آرژنین به L- سیترولین تبدیل می‌شود (با انتقال ۵ الکترون توسط NADPH)، نیتریک اکسید را سنتز می‌کند. نیتریک اکسید ذخیره نمی‌شود، بلکه به

[1] Missense

[2] Nitric Oxcide Syntase

محض ساخته شدن آزاد می‌شود. بنابراین تولید نیتریک اکسید از طریق تغییر در بیان و فعالیت آنزیم NOS3 و یا تغییر در دستیابی به کوفاکتورها و یا مولکول‌های مهارکننده اگزوژنوس تنظیم می‌شود (۴۷، ۴۸).

از نیمه دهه ۱۹۹۰ تا به‌حال، پلی‌مورفیسم‌های مختلفی برای این ژن شناسایی شده است که در ۳ گروه طبقه‌بندی می‌شوند. پلی‌مورفیسم‌های ناحیه اینترون، پلی‌مورفیسم‌های ناحیه ORF[1] یا (فریم خواندنی باز) و آنهایی که در ناحیه 5′-flanking DNA (پروموتور) قرار گرفته‌اند. بیشترین پلی‌مورفیسم‌های ژن NOS3 که تا به‌حال توصیف شده‌اند، در ناحیه اینترون رخ داده است. دو واریانت آن، ناشی از جهش تک‌نوکلئوتیدی در اینترون ۱۸ و ۲۳ و دو پلی‌مورفیسم دیگر، در اثر تکرار توالی تکراری پشت سرهم در اینترون ۱۳ (CA بیشتر از ۳۷ بار) و اینترون ۴ (تکرار توالی ۲۷ جفت بازی ۴ تا ۵ مرتبه در اینترون ۴) 4a4b می‌باشد. نوع دوم پلی‌مورفیسم‌ها در ناحیه پروموتور قرار گرفته است که توانایی تأثیر بر رونویسی ژن و تغییر در سطح آنزیم را دارند. از بین ۳ پلی‌مورفیسم گزارش شده در این ناحیه، جهش T-786C مهم‌تر می‌باشد. نوع سوم در ORF در اگزون ۷ قرار گرفته است. جهش تک‌نوکلئوتیدی G894T، می‌تواند ساختار اولیه پروتئین و یک یا چند فعالیت عملکردی در پروتئین را تغییر دهد. این SNP در اثر جایگزینی گلوتامات به جای آسپارتات در اسیدامینه ۲۹۸ ایجاد می‌شود (۴۹، ۵۰).

تاکنون ارتباط ژن NOS3 با بسیاری از بیماری‌ها از جمله بیماری‌های عروقی و التهابی و ناباروری به‌طور گسترده مطالعه شده است، ولی فقط دو مطالعه ارتباط آن را با واریکوسل بررسی کرده‌اند. کهرمان و همکاران (۲۰۱۶) ارتباط سه پلی‌مورفیسم T-786C، 4a4b و G894T را در افراد مبتلا به واریکوسل و بیان mRNA ژن NOS3 را در این افراد بررسی کردند. غلظت کم نیتریک اکسید (NO) و میزان بالای فعالیت نیتریک اکسید سنتاز (NOS3) در پلاسمای منی بیماران مبتلا به واریکوسل مشاهده شد (۳۵). دیواره رگ‌ها به‌دنبال بیان ژن NOS3، اکسید نیتریک آزاد می‌کنند و باعث شل شدن عروق می‌شوند. اگر مقدار ناکافی NO آزاد شود، اختلال عملکرد اندوتلیال و فشارخون بالا رخ می‌دهد که ممکن است در شروع واریکوسل نقش داشته باشد (۱۴). در این مطالعه، در افراد بیمار در مقایسه با افراد شاهد، فراوانی کمتری از پلی‌مورفیسم 4a4b و فراوانی بیشتری از پلی‌مورفیسم G894T (گروه مبتلا به واریکوسل ۴۷/۱٪ و گروه شاهد ۳۳٪) مشاهده شد و از نظر آماری هیچ تفاوت معناداری در فراوانی آللی یا ژنوتیپی بین بیماران و گروه کنترل برای پلی‌مورفیسم T-786C وجود نداشت. به‌نظر می‌رسد که پلی‌مورفیسم 4a4b از افزایش واریکوسل جلوگیری می‌کند، زیرا این پلی‌مورفیسم اینترونی، تولید NO اندوتلیال را تنظیم می‌کند. از طرف دیگر، چندشکلی G894T سطح NO را کاهش می‌دهد و ممکن است با جلوگیری از شل شدن عضلات و ایجاد فشارخون بالا در عروق بیضه، در وقوع واریکوسل نقش داشته باشد. به‌نظر می‌رسد در این موارد، سطح بالای فعالیت NOS3، مکانیسم جبرانی است که از آناتومی عروقی در بیماران مبتلا به واریکوسل محافظت می‌کند (۳۵).

در مطالعه طباطبایی و همکاران (۲۰۲۰) که بر روی ارتباط پلی‌مورفیسم‌های T-786C و 4a4b ژن NOS3 بر روی مردان ایرانی مبتلا به واریکوسل انجام شد، پلی‌مورفیسم T-786C و 4a4b از نظر آللی و ژنوتیپی تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نداشتند، لذا نمی‌توان آنها را به‌عنوان یه فاکتور ژنتیکی در ابتلاء به واریکوسل در نظر گرفت (۳۶).

ژن MTHFR

متیلن تترا هیدروفولات ردوکتاز (MTHFR)[2]، یکی از آنزیم‌های کلیدی در متابولیسم فولات می‌باشد که در تبدیل هموسیستئین به متیونین دخالت دارد. ژن متیلن تتراهیدروفولات ردوکتاز MTHFR روی کروموزوم ۱ در موقعیت 1p36.22قرار گرفته است. توالی cDNA آن ۲/۲ کیلوباز است و از ۱۱ اگزون تشکیل شده است. پیرایش متناوب ژن هم در انسان و

[1] Open Reading Frame

[2] Methylenetetrahydrofolate Reductase

هم در موش رخ می‌دهد. در انسان، محصول اصلی ژن MTHFR یک پروتئین ۷۷ کیلودالتونی است که از نظر تجزیه فعال است، اگرچه ایزوفرم کوچک‌تر از حدود ۷۰ کیلودالتونی در برخی از بافت‌ها مشاهده شده است. MTHFR تبدیل ۵،۱۰- متیلن تترا هیدروفولات به ۵- متیل تتراهیدروفولات، که فرم اصلی گردش فولات است را کاتالیز می‌کند (۵۱).

مهم‌ترین پلی‌مورفیسم‌های این ژن C677Tو A1298C می‌باشد. آلل C677Tبا جهش نقطه‌ای در موقعیت ۶۷۷ ژن MTHFR مشخص می‌شود که یک سیتوزین (C) را به تیمین (T) تبدیل می‌کند. این جهش منجر به جایگزینی اسید آمینه آلانین به والین در آنزیم می‌شود. جهش نقطه‌ای در ناحیه کدینگ C677T منجر به کاهش فعالیت آنزیم تا ۳۰٪ در افراد هتروزیگوت CT و تا ۸۰٪ در افراد هموزیگوت TT می‌شود. در آلل A1298C، جهش نقطه‌ای در اگزون ۷ در یک جایگزینی اسیدآمینه (گلوتامات برای آلانین) در آنزیم حاصل می‌شود (۵۲).

اوکار و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که مردان هموزیگوت (AA 1298) برای ژن متیلن تترا هیدروفولات ردوکتاز (MTHFR)، ۲/۳ برابر بیشتر از مردان هتروزیگوت (A1298C) برای این ژن شانس ابتلاء به واریکوسل را دارند. ژنMTHFR کدکننده آنزیمی است که هموسیستئین را به متیونین تبدیل می‌کند. MTHFR نقشی اساسی در تنظیم افزودن گروه‌های متیل در طی همانندسازی DNA دارد که مکانیسم مهمی در تنظیم اپی‌ژنتیک در طی اسپرماتوژنز است. SNPهای A1298C و C677T فعالیت آنزیم را کاهش می‌دهند و این‌ها با کیفیت مایع منی و ناباروری همراه هستند. محققان پیشنهاد کرده‌اند که وجود واریانت 1298AA می‌تواند یک فاکتور خطر برای پیشروی واریکوسل باشد (۳۷).

ژن APC1

ACP1[1] یک آنزیم پلی‌مورفیک با سه آلل هم‌بارز (A*، B* و C*) در یک لوکوس اتوزومی است که پروتئین تیروزین فسفاتاز با وزن مولکولی پایین سیتوزولی را کد می‌کند (cLMWPTP)[2]. ژن ACP1 دارای ۶ ژنوتیپ است که فعالیت آنزیمی آنها به‌ترتیب زیر کاهش می‌یابد.

*C /*C > *B / *C > *A / *C ~ *B / *B > *A / *A > *B / *A. ژنوتیپ‌های A* / A* و B* / A* فعالیت کمی دارند در حالی‌که ژنوتیپ‌های B* / B*، C* / A*، C* / B* و C* / C* فعالیت متوسط به بالا دارند. آنزیم توسط دو ایزوفرم F و S با مقادیر مختلف در بین ژنوتیپ‌ها تشکیل شده است. دو سوبسترای بیولوژیکی شامل: فلاوین مونونوکلئوتید (FMN) و ریشه‌های تیروزین فسفریله برای فعالیت cLMWPTP پیشنهاد شده است. cLMWPTP به‌عنوان یک فسفوتیروزین- فسفاتاز، ممکن است نقش مهمی در تعدیل میزان گلیکولیتیک، از طریق کنترل فعالیت گیرنده انسولین و فسفوریلاسیون پروتئین باند ۳ (BPP) داشته باشد (۵۳).

یکی دیگر از پلی‌مورفیسم‌های مرتبط با واریکوسل، ژن ACP1 می‌باشد. پروتئین ACP1 از طریق دفسفوریلاسیون گیرنده‌های PDGFباعث کاهش فعالیت فاکتورهای رشد مشتق از پلاکت (PGDF) می‌شود. PDGFبرای تنظیم رشد غدد جنسی در دوران جنینی و پس از زایمان شناخته شده است. جنتیل و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که مردان مبتلا به واریکوسل و ژنوتیپ C*/ B* تغییرات پارامترهای منی را نشان می‌دهند. علی‌رغم احتمال درگیر بودن مکانیسم‌های دیگر، سطح بالای فعالیت PDGF تولید شده توسط ژنوتیپ C*/ B* با کاهش تعداد اسپرم و مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم نسبت به افراد فاقد این ژنوتیپ همراه است و ممکن است تأثیر منفی بر باروری مردان مبتلا به واریکوسل داشته باشد (۳۸).

ژن P53

ژن TP53 که در کروموزوم 17p13 قرار دارد، نه‌تنها یک فاکتور رونویسی برای حفظ ثبات ژنوم و

[1] Acid Phosphatase locus 1

[2] cytosolic Low Molecular Weight Protein Tyrosine Phosphatase

هموستازی در سلول‌های پستانداران است، بلکه در سرکوب تومورزایی نیز نقش دارد. از آنجایی که P53 القاءکننده قوی آپوپتوز است، سطح پروتئین P53 باید پایین‌تر از شرایط طبیعی نگه داشته شود. تحت استرس سلولی مانند آسیب DNA، فعال شدن آنکوژن یا فرسایش تلومر، P53توسط مجموعه پیچیده‌ای از تغییرات پس از ترجمه فعال می‌شود. زمانی که P53 فعال می‌شود، به‌عنوان یک فاکتور رونویسی توالی خاص قادر به ایجاد واکنش‌های بیولوژیکی مختلف مانند توقف چرخه سلولی، آپوپتوز، پیری و تمایز است. انتخاب پاسخ به سیگنال‌های داخلی و خارجی، به سلول بستگی دارد (۵۴).

یکی از پلی‌مورفیسم‌های مهم ژنTP53 در کدون ۷۲ (rs1042522) رخ می‌دهد که ریشه‌های پرولین و یا آرژنین را کد می‌کند. پلی‌مورفیسم Arg/Pro در یک ناحیه غنی از پرولین (ریشه‌های ۹۲-۶۴) پروتئین TP53 واقع شده است، جایی که اسیدآمینه ۷۲ پرولین یکی از ۵ موتیف PXXP را که شبیه یک دومین اتصال SH3 است، تشکیل می‌دهد. این ناحیه برای سرکوب رشد و آپوپتوز با واسطه TP53 مورد نیاز است، اما برای توقف چرخه سلولی لازم نیست. Arg72 و Pro72 از TP53 عملکردهای مشخصی در مسیرهای پروتئینی بیوشیمیایی و بیولوژیکی دارند. درحالی‌که گزارش شده است که ژنوتیپ Arg /Arg مؤثرتر از ژنوتیپ Pro/Pro باعث القاء آپوپتوز می‌شود، ژنوتیپ Pro/Pro به‌نظر سطح بالاتری از توقف فاز G1را نسبت به ژنوتیپ Arg/Arg القاء می‌کند (۵۵). جئونگ و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که ژن‌های درگیر در آپوپتوز به‌طور متوسط توسط P53-Arg نسبت به P53-Pro در یک سطح ۳/۴ برابر بالاتری رونویسی می‌شوند (۵۶).

جنتیل و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که یکی دیگر از پلی‌مورفیسم ژن P53، در ارتباط با تغییرات منی در افراد مبتلا به واریکوسل است. کدون ۷۲ موجود در اگزون ۴ این ژن کدکننده یک پرولین (*Pro) است که اگر این اسیدآمینه به یک آرژنین تبدیل شود (*Arg) (با تبدیل G به C باعث جایگزینی اسیدآمینه Arg (CGC) به‌جای Pro(CCC) می‌شود)، بر خصوصیات بیوشیمیایی و عملکردی اسپرم تأثیر می‌گذارد و باعث آپوپتوز می‌شود. در مردان مبتلا به واریکوسل و کسانی که کاهش تحرک اسپرم دارند، فراوانی ژنوتیپ *Arg*/Arg بیشتر از ژنوتیپ *Pro*/Pro است که ممکن است بر باروری این بیماران تأثیر بگذارد (۳۹).

ژن POLG

حذف در DNA میتوکندری (mtDNA) اسپرم مردان مبتلا به واریکوسل گزارش شده است. گشتی و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که ۸۱/۷٪ از بیماران مبتلا به واریکوسل، ۴۹۷۷ جفت باز را در mtDNA اسپرماتوزوئیدها حذف کرده‌اند، در حالی‌که فقط ۱۵/۵٪ از گروه شاهد همان حذف را داشتند. در مقایسه با DNA هسته‌ای، mtDNA نسبت به آسیب اکسیداتیو مرتبط با فنوتیپ واریکوسل بسیار حساس است. بنابراین، میزان بالای ROS ممکن است باعث حذف در mtDNA در اسپرم شود. علاوه بر این، حذف‌ها اغلب در مناطقی با ژن‌های ساختاری متعدد وجود دارد که به آنزیم‌های سیستم انتقال الکترون رونویسی می‌شوند و باعث نقص در تولید ATP، بی‌حرکتی اسپرم و ناباروری می‌شوند (۱۶، ۵۷).

آنزیم DNA پلیمراز گاما، یک آنزیم هسته‌ای است که وظیفه همانندسازی و ترمیم DNA میتوکندری (mtDNA) را بر عهده دارد. اسپرماتوزوآ حاوی چندین کپی از mtDNA می‌باشد تا برای عملکرد و به‌ویژه حرکت اسپرم تولید انرژی کند. DNA پلی‌مرازگامای انسانی از زیرواحدهای کاتالیتیکی و فرعی تشکیل شده است. جهش در زیرواحدهای کاتالیتیکی این آنزیم منجر به اختلالات میتوکندریایی می‌شود (۵۸). زیرواحد کاتالیکی DNA پلی‌مراز گاما توسط ژن POLG کد می‌شود. این ژن در بازوی بلند کروموزوم ۱۵ (15q24-15q26) قرار دارد و اولین اگزون آن دارای یک ناحیه پلی‌گلوتامینی است که توسط تکرار ۱۰ واحدی موتیف CAG (CAACAGCAG) کد می‌شود. طول تکرار توالی CAG پلی‌مورفیک می‌باشد (۵۹).

مطالعات آغازین بر روی این ژن پیشنهاد کردند که تغییر در تعداد تکرار CAG می‌تواند با کاهش کیفیت اسپرم همراه شود. این جهش در ۱۰-۵٪ مردان نابارور اروپایی موجب کاهش کیفیت اسپرم شده است (۵۸). پلی‌مورفیسم ژن پلیمراز گاما (POLG) با واریکوسل در ارتباط است. پلی‌مورفیسم تکرار CAG از POLG در مورد اولیگواسپرمیا در مردان نابارور گزارش شده است که در آن آلل تغییر یافته بیش از ۱۰ تکرار CAG را نشان می‌دهد. در بیماران مبتلا به واریکوسل، اگرچه تفاوت قابل توجهی در گروه‌های مورد مطالعه مشاهده نشد، آنها پیشنهاد کردند که تکرارهای اضافی CAG ژن POLG یک عامل خطر ژنتیکی مؤثر است که بر واریکوسل تأثیر می‌گذارد و مکانیسم‌های احتمالی همچنان نامشخص هستند و نیاز به مطالعات بیشتری است (۴۰).

Sperm Protamine Genes

پروتامین‌ها، پروتئین‌های اصلی هسته اسپرم هستند. هسته اسپرم انسان شامل دو نوع پروتامین است: پروتامین ۱ (P1) کد شده توسط یک ژن تک نسخه و خانواده پروتئین‌های پروتامین ۲ (P2، P3 و P4)، که همه توسط یک ژن کد می‌شوند، رونویسی شده و به پروتئین پیش‌ساز تبدیل می‌شود. پروتامین‌ها بیش از یک قرن پیش کشف شده‌اند، اما عملکرد آنها هنوز کاملاً شناخته نشده است. در حقیقت، فرضیه‌های مختلفی ارائه شده است: تراکم هسته اسپرم به شکل هیدرودینامیکی فشرده، محافظت از پیام ژنتیکی تحویل داده شده توسط اسپرم، دخالت در فرآیندهای حفظ یکپارچگی و ترمیم DNA در طول یا بعد از انتقال نوکلئوهستون- نوکلئوپروتامین و در نقش‌پذیری اپی‌ژنتیکی اسپرم‌ها دخالت دارند (۶۰).

نسبت دو پروتامین (PRM1 و PRM2) بین گونه‌های مختلف بسیار متغیر است، مشخص شده که نسبت‌های غیرطبیعی در یک گونه با ناباروری مردان در ارتباط است. بنابراین، به احتمال زیاد بیان صحیح پروتامین‌ها، نشان‌دهنده نوعی ایستگاه بازرسی کروماتین در طول تولید اسپرم می‌باشد و پروتامین‌ها را به‌عنوان نشانگرهای زیستی مناسب برای تخمین کیفیت اسپرم ارائه می‌دهند (۶۱).

دو ژن مربوط به پروتئین‌های پروتامین نوع ۱ و ۲ به همراه ژن مربوط به پروتئین TNP2، هر سه روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱۶ (16p13.2) نزدیک هم قرار گرفته‌اند و یک خانواده ژنی را تشکیل می‌دهند. این سه لوکوس ژنی یک ناحیه ۲۸/۵ کیلوبازی را تشکیل می‌دهند که در یک حالت خطی آرایش یافته‌اند. فشرده کردن طبیعی هسته با جایگزینی پی‌درپی هیستون‌های سوماتیک با پروتئین‌هایی مانند پروتئین‌های انتقال هسته‌ای (TNP) و پروتامین‌ها در طول اسپرم‌سازی انجام می‌شود. نشان داده شده است که به‌دلایل مختلفی، نقص در پروتامین‌های اسپرم رخ می‌دهد و جالب است که فاکتورهای ژنتیکی تأثیر مهمی در این امر دارند (۶۲).

در مطالعه نیری و همکاران (۲۰۲۰)، شیوع پلی‌مورفیسم‌های ژن‌های پروتامین را در مردان نابارور مبتلا به واریکوسل بررسی کردند. آنها ۹ جایگزینی نوکئوتیدی مختلف در ژن PRM1و PRM2 در میان مردان مبتلا به واریکوسل پیدا کردند که ۶ نوع در PRM1 و ۳ نوع در ژن PRM2 بود. هموزیگوت g.805C> T در PRM2 بیشترین تغییر را داشت و در تمام بیماران واریکوسلی مشاهده شد. هتروزیگوت هر دو g.IVS1+75T>C و g.151G>A در PRM1 با فراوانی ۳٪ کمترین فراوانی را داشتند. دو مورد جایگزینی در منطقه کدکننده ژن PRM1 مشاهده شد، اما هیچ یک از آنها منجر به جایگزینی اسیدآمینه نشدند. در گروه کنترل، هیچ تغییری در ژن‌های PRM1 و PRM2 مشاهده نشد. در این مطالعه تعداد اسپرم، تحرک و مورفولوژی اسپرم تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل بدون تغییرات ژنی و گروه واریکوسل که تغییرات متعددی در ژن‌های پروتامین خود داشتند، داشت. بنابراین، تغییرات PRM1 و PRM2 در بیماران مبتلا به واریکوسل منجر به تولید اسپرمی می‌شود که در ژن‌های پروتامین خود نقص دارد و این یکی از دلایل احتمالی ناباروری ناشی از واریکوسل می‌تواند باشد (۴۱).

ژن‌های AAMP، SPINT و MKI67

در تازه‌ترین پژوهش انجام شده، یانگ و همکاران (۲۰۲۱) برای بهبود درک ما از وقوع و پیشرفت واریکوسل، تعیین توالی کل اگزوم (WES[1]) و تعیین توالی کل RNA رونویسی شده (RNA-seq) را انجام دادند. در ابتدا برای شناسایی ژن‌های کاندید با بیانی متفاوت، مدلی حیوانی (موشی) (۶۳)، مبتلا به واریکوسل ایجاد کردند و به‌دنبال واریانت‌های مخرب بالقوه در نمونه‌های خون ۱۱ مرد مبتلا به واریکوسل با شروع زودرس که پدران آنها نیز واریکوسل داشتند، پرداختند که ویژگی دوم برای ارزیابی نقش زمینه ژنتیکی در واریکوسل خانوادگی حیاتی است. متعاقباً، آنها گروه بزرگی از بیماران مبتلا به واریکوسل (قابل لمس) و افراد کنترل را برای ارزیابی واریانت‌های مرتبط با خطر واریکوسل و تشدید کننده بیماری، تعیین ژنوتیپ کردند. گروه یانگ ۳ ژن کاندید مرتبط با خطر واریکوسل (AAMP، SPINT و MKI67) را شناسایی کردند. این ژن‌ها در رگ‌زایی، تومورزایی و تکثیر سلولی نقش دارند. علاوه بر این، آنها چهار مسیر بیولوژیکی را که احتمالاً در پیشرفت واریکوسل نقش دارند و همه مرتبط با آنژیوژنز است را توصیف کردند. داده‌های آنها این مفهوم را پشتیبانی می‌کند که سابقه خانوادگی واریکوسل زمینه ژنتیکی دارد و عوامل ژنتیکی با وقوع و پیشرفت واریکوسل در ارتباط هستند (۶۴).

بحث

عوامل ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی در مردان مبتلا به واریکوسل با تولید اسپرمی با کیفیت پایین، در نتیجه از دست دادن باروری، صرف نظر از درجه بیماری همراه است. انواع فنوتیپ‌های مشاهده شده یک شرایط چندعاملی را نشان می‌دهند که در آن تغییرات مربوط به آناتومیک می‌تواند منجر به تغییراتی در محیط بیضه شود که ممکن است بر اسپرماتوژنز تأثیر بگذارد. به‌عنوان یک فرآیند منظم، هرگونه شکست می‌تواند تولید اسپرم و پتانسیل تولید مثل را مختل کند. واریکوسلکتومی، استراتژی اصلی درمان برای بهبود کیفیت منی است، با این وجود، در مورد تغییرات ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی مرتبط با نتایج درمان اطلاعات اندکی در دسترس می‌باشد. با توجه به طبیعت چندعاملی و ناهمگن واریکوسل، هیچ نشانگر زیستی خاصی قابل شناسایی نیست. با این حال، تغییرات متعددی مانند اختلالات کروموزومی، پلی‌مورفیسم‌های ژنی، جهش‌ها، SNPها، تغییر در mtDNA و جهش‌های اپی‌ژنتیکی اغلب در این شرایط مشاهده می‌شوند. به هر حال، شناسایی تغییرات ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی مربوط به مکانیسم‌های اصلی درگیر در واریکوسل، درک این بیماری را بهبود می‌بخشد. این ممکن است به جلوگیری از واریکوسل کمک کند و درمان و پیش‌آگهی بیماران را به‌ویژه برای مبتلایان به ناباروری راهنمایی کند.

هدف از انجام این مطالعه مروری، رسیدن به پاسخ این سؤال بود که آیا واریکوسل مرتبط با ناباروری به‌دلیل عوامل ژنتیکی روی می‌دهد؟ آیا جهش‌ها و پلی‌مورفیسم‌های ژنی در بیماری‌زایی واریکوسل نقش دارند؟ به‌طور کلی آیا می‌توان نقش عوامل ژنتیکی در بروز واریکوسل را بیشتر از عوامل محیطی در نظر گرفت؟ که برای یافتن این پاسخ‌ها، مقالاتی گردآوری و مطالعه شد که در ارتباط با عوامل ژنتیکی، اپی‌ژنتیکی، اختلالات کروموزوی و غیره، با واریکوسل بودند و تمرکز ما بیشتر بر بررسی تأثیر جهش‌ها و پلی‌مورفیسم‌های ژنی بر واریکوس بود. در سراسر جهان تاکنون ژن‌های مختلفی در ارتباط با واریکوسل بررسی شده‌اند که هر کدام اثرات متفاوتی بر واریکوسل و در نهایت قدرت باروری گذاشته‌اند. برخی از پلی‌مورفیسم‌های شایع در جمعیت‌ها سبب افزایش اکسیداتیو استرس و آسیب به DNA، تعدادی سبب ناهنجاری در کروماتین اسپرم، کاهش بیان، کاهش کیفیت اسپرم و غیره شده و عده‌ای نیز بی‌اثر بودند. به‌طورکلی هرچند عوامل ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی تأثیر به‌سزایی در بیماری‌زایی واریکوسل دارند، ولی هنوز نمی‌توان به‌طور یقین ادعا کرد که واریکوسل منشأ

[1] Whole Exom Sequencing

ژنتیکی دارد و اثر عوامل ژنتیک در ایجاد آن بیشتر از عوامل محیطی است.

به‌دلیل ماهیت چندعاملی واریکوسل، هنوز هیچ نشانگر زیستی شناخته شده‌ای برای تشخیص واریکوسل در مراحل اولیه بیماری وجود ندارد. استفاده معمول از توالی‌یابی ژنی، آنالیز جهش‌ها و مطالعه اپی‌ژنوم اسپرم توسط عوامل مختلفی از جمله هزینه، در دسترس بودن تجهیزات و ارتباط بالینی محدود می‌شود. همچنین با توجه به مطالعات انجام گرفته و نتایج متفاوت از تأثیر پلی‌مورفیسم‌ها بر ناباروری‌های مختلف در کشورهای گوناگون، پیشنهاد می‌شود این پلی‌مورفیسم‌ها در جامعه آماری بزرگ‌تر و همچنین در افراد مبتلا به واریکوسل که پدران آنان نیز واریکوسل دارند، بررسی شود. از آنجا که میزان ناباروری در ایران (۱۵-۱۳٪) از سرانه آمار جهانی (۱۰٪) بیشتر است (از هر ۵ زوج ایرانی یک زوج)، پیشنهاد می‌شود که برای کاهش و درمان ناباروری، با بررسی ژن‌ها و پلی‌مورفیسم‌های درگیر دیگر، هرچه سریع‌تر به ماهیت دقیق ژنتیکی واریکوسل که از مهم‌ترین عوامل ناباروری در مردان می‌باشد، پی برد.

ظهور تکنیک‌های توالی‌یابی با قدرت بالا در عصر "OMICS" مانند توالی‌یابی نسل آینده، امکان توالی‌یابی کل ژنوم، ترانسکریپتوم، اطلاعات متیلوم و همچنین مطالعات پروتئومیکس را مقدور کرده است که ممکن است بینش مهمی در مورد پایه ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی واریکوسل، به‌ویژه در پیشگیری یا درمان ناباروری در بیماران به محققین بدهد.

نتیجه‌گیری

تاکنون پلی‌مورفیسم‌های مختلفی از ژن‌های گوناگون از جمله NOS3، hOGG1، TNP1,2، GST، PRM، POLG، P53، ACP1، MTHFR به عنوان کاندیدهای احتمالی برای وقوع و پیشرفت واریکوسل در جمعیت‌های گوناگون جهان مورد بررسی قرار گرفته است که هرکدام اثرات متنوعی بر پاتوفیزیولوژی واریکوسل نشان داده است. به‌عنوان مثال ژنوتیپ‌های ژن GST در افراد مبتلا به واریکوسل سبب افزایش حساسیت به آسیب‌های اکسیداتیو در این افراد می‌شود یا در ژن TNP1,2 باعث تراکم غیرطبیعی کروماتین اسپرم می‌شود. درحالی‌که پلی - مورفیسم‌های T-786C **و** 4a4b **ژن** NOS3 اثری در اختلال واریکوسل ندارند. بنابراین صحیح یا غلط بودن فرضیه (تأثیر ژنتیک بر واریکوسل) به‌دلیل نداشتن هماهنگی شواهد و اختلاف نظر هنوز مشخص نیست و نمی‌توان به‌طور قطع واریکوسل را به‌دلایل ژنتیکی ربط داد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از تمامی پژوهشگرانی که از مطالعات آنها در این مقاله مروری استفاده شده است، تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Rajeev K, Rupin SH. Varicocele and male infertility: current status; 2005.
2. Moein MR, Soleimani M, Tabibnejad N. Reactive oxygen species (ROS) production in seminal fluid correlate with the severity of varicocele in infertile men. International Journal of Reproductive BioMedicine 2008; 6(3):65.
3. Rao L, Babu A, Kanakavalli M, Padmalatha V, Singh A, Singh PK, et al. Chromosomal abnormalities and y chromosome microdeletions in infertile men with varicocele and idiopathic infertility of South Indian origin. Journal of andrology 2004; 25(1):147-53.
4. Su JS, Farber NJ, Vij SC. Pathophysiology and treatment options of varicocele: An overview. Andrologia 2021; 53(1):e13576.
5. Maheshwari A, Muneer A, Lucky M, Mathur R, McEleny K, British Association of Urological Surgeons and the British Fertility Society. A review of varicocele treatment and fertility outcomes. Human Fertility 2020: 1-8.
6. Siegel D. Imaging and interventional therapy for varicoceles. Current urology reports 2014; 15(4):1-6.
7. Miyaoka R, Esteves SC. A critical appraisal on the role of varicocele in male infertility. Advances in urology 2011; 2012.
8. Weedin JW, Khera M, Lipshultz LI. Varicocele repair in patients with nonobstructive azoospermia: a meta-analysis. The Journal of urology 2010; 183(6):2309-15.

9. Kantartzi PD, Goulis CD, Goulis GD, Papadimas I. Male infertility and varicocele: myths and reality. Hippokratia 2007; 11(3):99.
10. Panner Selvam MK, Baskaran S, Agarwal A, Henkel R. Protein profiling in unlocking the basis of varicocele-associated infertility. Andrologia 2021; 53(1):e13645.
11. Sheehan MM, Ramasamy R, Lamb DJ. Molecular mechanisms involved in varicocele-associated infertility. Journal of assisted reproduction and genetics 2014; 31(5):521-6.
12. Ata-Abadi NS, Mowla SJ, Aboutalebi F, Dormiani K, Kiani-Esfahani A, Tavalaee M, et al. Hypoxia-related long noncoding RNAs are associated with varicocele-related male infertility. PloS one 2020; 15(4):e0232357.
13. Sandlow J. Pathogenesis and treatment of varicoceles. Bmj 2004; 328(7446):967-8.
14. Esteves SC, Cho CL, Majzoub A, Agarwal A, editors. Varicocele and Male Infertility: A Complete Guide. Springer Nature; 2019.
15. Santana VP, Esteves SC. Seeking the elusive genes associated with varicocele: a step forward. Fertility and Sterility 2021; 115(2):313-4.
16. Santana VP, Miranda-Furtado CL, de Oliveira-Gennaro FG, Dos Reis RM. Genetics and epigenetics of varicocele pathophysiology: an overview. Journal of Assisted Reproduction and Genetics 2017; 34(7):839-47.
17. Samanta L, Agarwal A, Swain N, Sharma R, Gopalan B, Esteves SC, et al. Proteomic signatures of sperm mitochondria in varicocele: clinical use as biomarkers of varicocele associated infertility. The Journal of urology 2018; 200(2):414-22.
18. Santana VP, James ER, Miranda-Furtado CL, de Souza MF, Pompeu CP, Esteves SC, et al. Differential DNA methylation pattern and sperm quality in men with varicocele. Fertility and Sterility 2020; 114(4):770-8.
19. Heidari MM, Khatami M, Danafar A, Dianat T, Farahmand G, Talebi AR. Mitochondrial genetic variation in Iranian infertile men with varicocele. International journal of fertility & sterility 2016; 10(3):303.
20. de Sousa Filho EP, Christofolini DM, Barbosa CP, Glina S, Bianco B. Y chromosome microdeletions and varicocele as aetiological factors of male infertility: A cross-sectional study. Andrologia 2018; 50(3):e12938.
21. Jensen CF, Østergren P, Dupree JM, Ohl DA, Sønksen J, Fode M. Varicocele and male infertility. Nature Reviews Urology 2017; 14(9):523-33.
22. Dong Q, Yang B, Ren ZJ. Genetic characteristics of varicocele: An almost unexplored area. Zhonghua nan ke xue= National Journal of Andrology 2018; 24(10):867-70.
23. Dehghani M, Vahidi AR, Moin MR, Haghiroalsadat F, Sharafaldini M, Sheikhha MH. Investigating frequency of GSTT1 and GSTM1 genes null genotype in Men with varicocele and its association with the sperm parameters. SSU_Journals 2012; 20(3):350-60.
24. Safarinejad MR, Shafiei N, Safarinejad S. The association of glutathione-S-transferase gene polymorphisms (GSTM1, GSTT1, GSTP1) with idiopathic male infertility. Journal of Human Genetics 2010; 55(9):565-70.
25. Zhu B, Yin L, Zhang JY. Glutathione S-transferase polymorphisms in varicocele patients: a meta-analysis. Genetics and Molecular Research 2015; 14(4):18851-8.
26. Chen SS, Chang LS, Chen HW, Wei YH. Polymorphisms of glutathione S-transferase M1 and male infertility in Taiwanese patients with varicocele. Human Reproduction 2002; 17(3):718-25.
27. Wu Q, Xing J, Xue W, Sun J, Wang X, Jin X. Influence of polymorphism of glutathione S-transferase T1 on Chinese infertile patients with varicocele. Fertility and sterility 2009; 91(3):960-2.
28. Tang K, Xue W, Xing Y, Xu S, Wu Q, Liu R, et al. Genetic polymorphisms of glutathione S-transferase M1, T1, and P1, and the assessment of oxidative damage in infertile men with varicoceles from northwestern China. Journal of andrology 2012; 33(2):257-63.
29. Acar H, Kılınç M, Guven S, Inan Z. Glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms in Turkish patients with varicocele. Andrologia 2012; 44(1):34-7.
30. Ichioka K, Nagahama K, Okubo K, Soda T, Ogawa O, Nishiyama H. Genetic polymorphisms in glutathione S-transferase T1 affect the surgical outcome of varicocelectomies in infertile patients. Asian journal of andrology 2009; 11(3):333.
31. Hu WG, Pan RJ, Cai W, Wang ZT, Zhu ZG. Lack of association between the hOGG1 gene Ser326Cys polymorphism and gastric cancer risk: evidence from a case-control study and a meta-analysis. Genet Mol Res 2015; 14:14670-9.
32. Chen SS, Chiu LP. The hOGG1 Ser326Cys polymorphism and male subfertility in Taiwanese patients with varicocele. Andrologia 2018; 50(5):e13007.
33. Heidari MM, Khatami M, Talebi AR, Moezzi F. Mutation analysis of TNP1 gene in infertile men with varicocele. Iranian journal of reproductive medicine 2014; 12(4):257.
34. Heidari MM, Danafar A, Moezzi F, Khatami M, Talebi AR. The association between TNP2 gene polymorphisms and Iranian infertile men with varicocele: A case-control study. International Journal of Reproductive BioMedicine 2019; 17(8):557.
35. Kahraman CY, Tasdemir S, Sahin I, Marzioglu Ozdemir E, Yaralı O, Ziypak T, et al. The relationship between endothelial nitric oxide synthase Gene (NOS3) polymorphisms, NOS3 expression, and varicocele. Genetic testing and molecular biomarkers 2016; 20(4):191-6.
36. Tabatabaei SN, Heidari MM, Khatami M. The Study of Nitric Oxide Synthase 3 (NOS3) T-786C and 4a4b Gene Polymorphism in Iranian Men with Varicocele. Qom University of Medical Sciences Journal 2020; 13(12):45-54.

37. Ucar VB, Nami B, Acar H, Kılınç M. Is methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene A 1298 C polymorphism related with varicocele risk?. Andrologia 2015; 47(1):42-6.
38. Gentile V, Nicotra M, Scaravelli G, Antonini G, Ambrosi S, Saccucci P, et al. ACP 1 genetic polymorphism and spermatic parameters in men with varicocele. Andrologia 2014; 46(2):147-50.
39. Gentile V, Nicotra M, Minucci S, Ambrosi S, Saccucci P, Gloria-Bottini F, et al. The relationship between p53 codon 72 genetic polymorphism and sperm parameters. A study of men with varicocele. Reproductive medicine and biology 2015; 14(1):11-5.
40. Heidari MM, Khatami M, Talebi AR. The POLG gene polymorphism in Iranian varicocele-associated infertility patients. Iranian journal of basic medical sciences 2012; 15(2):739.
41. Nayeri M, Talebi AR, Heidari MM, Seifati SM, Tabibnejad N. Polymorphisms of sperm protamine genes and CMA3 staining in infertile men with varicocele. Revista internacional de andrologia 2020; 18(1):7-13.
42. Meistrich ML, Mohapatra B, Shirley CR, Zhao M. Roles of transition nuclear proteins in spermiogenesis. Chromosoma 2003; 111(8):483-8.
43. Yu YE, Zhang Y, Unni E, Shirley CR, Deng JM, Russell LD, et al. Abnormal spermatogenesis and reduced fertility in transition nuclear protein 1-deficient mice. Proceedings of the National Academy of Sciences 2000; 97(9):4683-8.
44. Noblanc A, Kocer A, Drevet JR. Recent knowledge concerning mammalian sperm chromatin organization and its potential weaknesses when facing oxidative challenge. Basic and clinical andrology 2014; 24(1):1-12.
45. Zhao M, Shirley CR, Hayashi S, Marcon L, Mohapatra B, Suganuma R, et al. Transition nuclear proteins are required for normal chromatin condensation and functional sperm development. Genesis 2004; 38(4):200-13.
46. Miyagawa Y, Nishimura H, Tsujimura A, Matsuoka Y, Matsumiya K, Okuyama A, et al. Single-nucleotide polymorphisms and mutation analyses of the TNP1 and TNP2 genes of fertile and infertile human male populations. Journal of andrology 2005; 26(6):779-86.
47. Agarwal A, Hamada A, Esteves SC. Insight into oxidative stress in varicocele-associated male infertility: part 1. Nature Reviews Urology 2012; 9(12):678-90.
48. Visioli F, Hagen TM. Antioxidants to enhance fertility: role of eNOS and potential benefits. Pharmacological research 2011; 64(5):431-7.
49. Wattanapitayakul SK, Mihm MJ, Young AP, Bauer JA. Therapeutic implications of human endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism. Trends in pharmacological sciences 2001; 22(7):361-8.
50. Shin SJ, Lee HH, Cha SH, Kim JH, Shim SH, Choi DH, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms (− 786T> C, 4a4b, 894G> T) and haplotypes in Korean patients with recurrent spontaneous abortion. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology 2010; 152(1):64-7.
51. Botto LD, Yang Q. 5, 10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: a HuGE review. American journal of epidemiology 2000; 151(9):862-77.
52. Schwahn B, Rozen R. Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. American journal of pharmacogenomics 2001; 1(3):189-201.
53. Neri A, Banci M, Pietropolli A, Gloria-Bottini F, Magrini A. Smoking, ACP 1 and Infertility in Subjects with Varicocele. Health 2019; 11(10):1331.
54. Jin Q, Wang B, Wang J, Liu T, Yu X, Jia C, et al. Association between TP53 gene Arg72Pro polymorphism and idiopathic infertility in southeast Chinese Han males. Systems biology in reproductive medicine 2013; 59(6):342-6.
55. Mashayekhi F, Hadiyan SP. A single-nucleotide polymorphism in TP53 may be a genetic risk factor for Iranian patients with idiopathic male infertility. Andrologia 2012; 44:560-4.
56. Jeong BS, Hu W, Belyi V, Rabadan R, Levine AJ. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis. The FASEB Journal 2010; 24(5):1347-53.
57. Gashti NG, Salehi Z, Madani AH, Dalivandan ST. 4977-bp mitochondrial DNA deletion in infertile patients with varicocele. Andrologia 2014; 46(3):258-62.
58. Ferlin A, Raicu F, Gatta V, Zuccarello D, Palka G, Foresta C. Male infertility: role of genetic background. Reproductive biomedicine online 2007; 14(6):734-45.
59. Krausz C, Guarducci E, Becherini L, Degl'Innocenti S, Gerace L, Balercia G, et al. The clinical significance of the POLG gene polymorphism in male infertility. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 2004; 89(9):4292-7.
60. Oliva R. Protamines and male infertility. Human reproduction update 2006; 12(4):417-35.
61. Steger K, Balhorn R. Sperm nuclear protamines: A checkpoint to control sperm chromatin quality. Anatomia, histologia, embryologia 2018; 47(4):273-9.
62. Balhorn R. The protamine family of sperm nuclear proteins. Genome biology 2007; 8(9):1-8.
63. Rahimi H, Fateh F, Sheidanik S, Tabatabaei SN, Arefnezhad R, Khorrami N, et al. Genetics of Human Infertility. 1nd ed. Tehran: jame-e-Negar; 1399.
64. Yang B, Yang Y, Liu Y, Li H, Ren S, Peng Z, et al. Molecular characteristics of varicocele: integration of whole-exome and transcriptome sequencing. Fertility and Sterility 2021; 115(2):363-72.