

بررسی فراوانی ریزحذف های کروموزوم Y در مردان نابارور ایرانی مبتلا به آزواسپرمی و الیگواسپرمی

رضا میرفخرایی (MSc)^{۱*}، فرزانه میرزاجانی (PhD)^۲، ناصر سلسبیلی (PhD)^۳، مریم منتظری (MSc)^۴، حسین فضلی (BSc)^۵، مسعود هوشمند (PhD)^۶، سید مهدی کلانتر (PhD)^۷

۱-دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
 ۲-پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران
 ۳-بیمارستان میرزا کوچک خان، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
 ۴-مرکز تحقیقاتی و درمانی ناباروری یزد، یزد، ایران

*نویسنده مسوول مکاتبات، پست الکترونیک: reza_mirfakhraie@yahoo.com
 rmirfakhraie@nigeb.ac.ir

چکیده

عوامل ژنتیکی حدوداً ۱۰ درصد علت های ناباروری را شامل می شوند. در این بین ژنهایی که در نواحی AZF (شامل AZFa، AZFb و AZFc) در بازوی بلند کروموزوم Y قرار دارند نقش بسزایی در فرآیند اسپرماتوژنز دارند. در این تحقیق سعی بر آن شده است که فراوانی وقوع ریزحذف های کروموزوم Y در بیماران آزواسپرمی و الیگواسپرمی تعیین گردد. در مجموع تعداد ۱۲۰ مرد ایرانی مبتلا به ناباروری مردان (شامل ۱۰۶ بیمار آزواسپرمی و ۱۴ بیمار الیگواسپرمی) که فاقد هر نوع اختلال سیتوژنتیکی بودند مورد بررسی قرار گرفتند. تعداد ۱۰۰ مرد بارور هم به عنوان گروه شاهد در این تحقیق مدنظر قرار گرفتند. وجود و یا فقدان ۶ مارکر STS (دو مارکر برای هر یک از نواحی) در افراد بیمار و کنترل با استفاده از روش Multiplex PCR جستجو گردید. ۱۵ (۱۲/۵٪) نفر از بیماران وقوع حذف هایی را در کروموزوم Y نشان دادند. حذف AZFa در ۲ (۱/۶۷٪)، AZFb در ۱۱ (۹/۱۷٪) و حذف AZFc در ۶ (۵٪) نفر از بیماران مشاهده گردید. این نتایج همراه با اطلاعاتی که در حال انتشار است بیانگر اهمیت ریزحذف های کروموزوم Y به عنوان عامل آسیب های شدید اسپرماتوژنیک است.

واژه های کلیدی

ریزحذف،

کروموزوم Y،

ناباروری مردان

مقدمه

ناباروری از دیدگاه کلینیکی به مفهوم ناتوانی در بارداری بعد از ۱۲ ماه آمیزش طبیعی بدون استفاده از وسائل جلوگیری کننده از بارداری می باشد (۱). در حدود ۱۵ درصد زوج ها به دلایل

بسیار تکراری در طی میوز است. فرکانس حذف در سه ناحیه اول متفاوت می باشد به گونه ای که میزان حذف در نواحی a, bc, b, c و abc به ترتیب ۷۹، ۹، ۶، ۳ و ۳ درصد گزارش شده است (۴).

از نقطه نظر ارتباط میان ژنوتیپ و فنوتیپ حذف های ناحیه AZFa باعث آزواسپرمی و سندروم SCO^۸ می شوند (۵). مهمترین ژن هائی که در این ناحیه قرار دارند عبارتند از DBY و USP9Y. حذف کامل AZFb و AZFb+c با تصویر هیستولوژیک سندروم SCO یا توقف اسپرماتوزن همراه است که منجر به آزواسپرمی می شود (۶). حذف ناحیه AZFc با فنوتیپهای کلینیکی و هیستولوژیکی متغیر (از هیپواسپرماتوزن^۹ یا الیگواسپرمی تا سندروم SCO یا آزواسپرمی) همراه است. در کل حذف های ناحیه AZFc با اسپرماتوزن ناقص هم خوانی دارد (۷). حذف های ناحیه AZFc در مردان مبتلا به آزواسپرمی و الیگواسپرمی شدید قابل مشاهده بوده و در شرایط نادر قابلیت انتقال به زاده های مذکر را دارا می باشند (۸).

در مطالعه حاضر وقوع ریزحذف در نواحی AZFa، b و c در مردان ناباروری که هدف درمان از طریق روش تزریق درون سیتوپلاسمی اسپرم (ICSI)^{۱۰} دارا بودند، مورد بررسی قرار گرفته است. این مطالعه می تواند در دستیابی به اطلاعات اپیدمیولوژیک کمک کند که به نوبه خود می تواند برای کلینیک های ناباروری مفید فایده باشد، چرا که در اتخاذ یک استراتژی مناسب جهت مشاوره ژنتیک زوج ها و نیز روش درمانی مناسب سودمند است.

مواد و روش ها

این تحقیق بر روی ۱۲۰ مرد مبتلا به ناباروری از نوع آزواسپرمی (۱۰۴ نفر) و الیگواسپرمی (۱۶ نفر) که از مراکز تحقیقاتی و درمانی ناباروری یزد، کوثر و بیمارستان دی معرفی شده بودند انجام گرفت. تعیین نوع ناباروری بر اساس آنالیز مایع سیمن بر مبنای دستورالعمل سازمان بهداشت

مختلف نابارور می باشند که در این میان ناباروری مردان ۵۰ درصد موارد را شامل می شود. انواع ناهنجاری های اسپرمی در مردان نابارور عبارتند از:

آزواسپرمی^۱ (عدم اسپرماتوزوآ در انزال)، الیگواسپرمی^۲ کاهش اسپرم به میزانی کمتر از 20×10^6 در میلی لیتر، استنوزواسپرمی^۳ (کاهش حرکت رو به جلوی اسپرم به میزان کمتر از ۵۰ درصد)، تراتوزواسپرمی^۴ (کمتر از ۳۰٪ اسپرم ها دارای شکل طبیعی می باشند)، الیگواسپرماتوزواسپرمی^۵ (مجموعه سه حالت اخیر) و آسپرمی^۶ (فقدان انزال). تاکنون در زمینه ناباروری در مردان عوامل متعددی ذکر گردیده که عبارتند از واریکوسل، انسداد مجاری اسپرماتیک، آگلوتیناسیون اسپرم ها، ناتوانی جنسی، عدم تعادل هورمونی و نقائص ژنتیکی. بنابر یافته های کنونی عوامل ژنتیکی تا حدود ۱۰ درصد در ناباروری مردان نقش دارند (۲).

ناحیه تعیین کننده جنسیت مردانه (SRY) در بازوی کوتاه کروموزوم Y قرار دارد در حالیکه ژن های موثر در فرآیند پیچیده اسپرماتوزن در بازوی بلند (Yq11) واقع شده اند و عمدتاً عبارتند از RBM1، RBM2، DAZ، BPY2، TSPY، DFFRY، CDY و USP9Y. ریزحذف های کروموزوم Y شایع ترین علت ژنتیکی ناباروری در مردان به ویژه در مبتلایان به الیگواسپرمی و آزواسپرمی است (۲). مطالعات انجام شده منجر به شناسائی سه ناحیه غیر هم پوشان در کروموزوم Y گردیده است که جهت اسپرماتوزن ضروری می باشند و عبارتند از AZFa، AZFb و AZFc که در بازوی بلند کروموزوم Y قرار دارند. به علاوه ناحیه چهارمی بنام AZFd نیز در حد فاصل نواحی AZFb و c شناسائی گردیده است (۳). حذف هائی که در این مناطق رخ میدهند می توانند باعث نقائص اسپرماتوزنیک شدید از آزواسپرمی غیر انسدادی (۱۵-۱۰ درصد) تا الیگواسپرمی (۱۰-۵ درصد) شوند. علت این حذف ها نوترکیبی بین نوارهای بلند توالی های DNA

- 1-Azoospermia
- 2-Oligozoospermia
- 3-Asthenozoospermia
- 4- Teratozoospermia
- 5-Oligoasthenoteratozoospermia
- 6-Aspermia
- 7-Azoospermia Factor

8-Sertoli Cell Only Syndrome

9-Hypo spermatogenesis

10-Intracytoplasmic Spermatozoa Injection

نشان دادند. نوع و مکان حذف های مشاهده شده در این ۱۵ بیمار در جدول ۲ ذکر گردیده است. هیچ نوع حذفی در مارکرهای مورد مطالعه در افراد شاهد بارور مشاهده نگردید.

بحث

تقریباً در ۶۰ درصد موارد علت ناباروری مردان ناهنجاری های کروموزومی و ریزحذف های کروموزوم Y است که منجر به نقص در اسپرماتوژنز می شود (۱۱ و ۱۲). وقوع ناهنجاری های کروموزومی در جمعیت عمومی مردان بین ۰/۷ تا ۱ درصد گزارش شده است (۱۱ و ۱۲). وقتی این رقم با میزان وقوع آن در مردان نابارور مقایسه شود مشخص می گردد که این آمار در ناباروران ۱۰ تا ۲۰ درصد بالاتر است. از میان ناهنجاری های کروموزومی، ناهنجاری های کروموزوم های جنسی بیشتر در گروه آواسپرم گزارش گردیده است در حالیکه ناهنجاری های اتوزوم بیشتر در گروه الیگواسپرم دیده شده است (۱۳). در مطالعه حاضر ۱۲/۵ درصد بیماران (۱۵ نفر) وقوع حذف هایی را در کروموزوم Y نشان دادند که از این میان ۱۲/۲۶ درصد (۲ نفر از ۱۴ بیمار) الیگواسپرم بودند. بالا بودن درصد بیماران الیگواسپرم دارای ریزحذف احتمالاً به دلیل کم بودن تعداد نمونه ها در مقایسه با افراد آواسپرم است. در تحقیقات مختلف انجام شده فرکانس وقوع ریزحذف ها در افراد آواسپرم از ۳ تا ۵۵ درصد و در افراد الیگواسپرم کمتر از ۶ درصد تا ۲۲ درصد متغیر گزارش شده است (۱۸-۱۴). در جدول ۳ مقایسه ای میان میزان وقوع ریزحذف های کروموزوم Y در گزارشات پیشین با نتایج تحقیق حاضر صورت گرفته است که در مجموع نشان می دهد که فراوانی بدست آمده در این تحقیق در محدوده گزارش شده در سایر کشورها می باشد (۲۷-۱۹).

تحقیقات و پیشرفت های اخیر در زمینه ژنتیک مولکولی نشان داده است که ریزحذف های کروموزوم Y مهمترین عامل ناباروری در مردان می باشند. در اکثریت مواقع وقوع ریزحذف های Y یک رخداد *denovo* می باشد و منشاء این حذف ها به خوبی شناخته نشده است. ریزحذف ها ممکن

جهانی صورت پذیرفت (۹). افرادی که دارای تغییرات کروموزومی از دیدگاه سیتوژنتیکی بودند از این مطالعه کنار گذاشته شدند. تعداد ۱۰۰ نفر مرد بارور به عنوان گروه شاهد و یک زن نیز به عنوان کنترل منفی مورد بررسی قرار گرفتند. DNA ژنومی از لئوسیت های خون محیطی بر مبنای پروتکل استاندارد جداسازی شد (۱۰). جهت شناسایی ریزحذف های کروموزوم Y از روش Multiplex PCR و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی شش مارکر STS^{۱۱} در بازوی بلند کروموزوم (دو مارکر STS به ازاء هر یک از نواحی AZFa، b و c) استفاده شد. از پرایمرهای اختصاصی مناطق SRY و ZFY به عنوان کنترل استفاده گردید. دو واکنش Multiplex PCR طراحی گردید. واکنش اول شامل پرایمرهای ZFY، sY254 و sY127، واکنش دوم شامل پرایمرهای SRY، sY84، sY134 و sY255، و برای مارکر sY86 واکنش PCR جداگانه انجام شد. توالی پرایمرها و ناحیه مربوطه در جدول ۱ ذکر گردیده است. مواد متشکله هر واکنش ۵۰ μl PCR عبارت بودند از: ۱۰۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۱/۵ تا ۲ pmol/l MgCl₂، ۱۰ mmol/l از dNTPs، ۵ pmol/l از هر پرایمر، ۱ μl از PCR Buffer (10X) و ۲ u آنزیم Taq پلیمرز. برنامه PCR شامل مرحله واسرشتی اولیه در ۹۴ °C به مدت ۵ دقیقه، ۳۲ سیکل شامل ۹۴ °C به مدت ۳۰ ثانیه، ۵۷ °C به مدت ۱ دقیقه، ۷۲ °C به مدت ۱ دقیقه و در نهایت ۱ مرحله طولیل سازی نهایی در ۷۲ °C به مدت ۵ دقیقه بود. محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۲٪ و یا ژل اکریل آمید ۱۰٪ جداسازی شدند.

نتایج

در جدول ۲ اطلاعات مربوط به بیماران، آنالیزهای هورمونی، بیوپسی بیضه (در صورت انجام) ذکر شده است. در بیمارانی که تحت درمان قرار گرفته اند نیز نوع درمان و نتیجه حاصل از آن که وجود یا عدم اسپرم است درج شده است. در کل بیماران مورد مطالعه ۱۵ (۱۲/۵ درصد) نفر وقوع ریزحذف را

11- Sequence-tagged sites

طبیعی ضروری باشند ولی در هر حال اینکه آیا حذف آنها در مردان دارای حذف AZFb باعث ناباروری شود، مشخص نیست (۲۸ و ۲۹).

دو بیمار الیگواسپرم در این مطالعه فاقد مارکر sY127 بودند که بیانگر حذف در ناحیه AZFb است. از میان بیماران آزواسپرم ۴ (۳/۸٪) نفر حذف در ناحیه AZFc، ۶ بیمار (۵/۷٪) حذف در ناحیه AZFb و ۱ بیمار (۱٪) حذف در هر دو ناحیه AZFb و c، ۱ بیمار (۱٪) حذف AZFab و ۱ بیمار (۱٪) نیز حذف AZFabc را نشان دادند (جدول ۲). در مجموع در کل بیماران مورد مطالعه حذف AZFa در ۲ (۱/۷٪)، حذف AZFc در ۶ (۵٪) و حذف AZFb در ۱۱ (۹/۱۷٪) بیماران مشاهده گردید که در نوع خود جالب توجه است چراکه بیشتر مطالعات انجام شده دلالت بر فراوانی بیشتر حذف های AZFc در مقایسه با AZFb دارند به گونه ای که مطالعات مختلف در مجموع فرکانس حذف در نواحی a, bc, c, b و abc در میان بیماران دارای حذف را به ترتیب ۷۹، ۹، ۶، ۳ و ۳ درصد تعیین نموده اند (۴). چنانچه در تحقیق حاضر نیز فراوانی حذف ها تنها در میان بیماران دارای حذف بررسی گردد، در این صورت این فراوانی برای نواحی b, c, ab, bc و abc به ترتیب ۳/۳، ۲۶/۶۷، ۶/۶۷، ۶/۶۷ و ۶/۶۷ درصد خواهد بود. به عبارت دیگر یافته های حاضر نشان می دهد که در جمعیت مورد مطالعه حذف ژنهای ناحیه AZFb در مقایسه با حذف های لوکوس DAZ از فراوانی بیشتری در میان بیماران برخوردار بوده است. این نکته از این نظر بویژه برای کلینیک های درمان ناباروری حائز اهمیت است که در مردان آزواسپرمی شناسائی حذف کامل AZFa و یا b در مقایسه با حذف در ناحیه C برای بازیابی اسپرم از بیضه ارزش پیشگویی منفی دارد (۵). وقوع حذف در ناحیه AZFa در هیچ یک از بیماران به صورت مجزا مشاهده نگردید که از این نظر با مطالعات پیشین در جمعیت ایرانی همخوانی دارد (۲۰ و ۲۲).

از دیدگاه کلینیکی بررسی ریزحذف های کروموزوم Y می تواند در پیشگویی نتایج حاصل از استفاده از روش هایی نظیر TESE/ICSI کمک نماید. تصویرا رابطه میان فنوتیپ و

است در بیضه ها، تخم لقاح یافته و نیز در مرحله جنینی رخ دهد و از تشکیل اسپرماتوگونی در جنین جلوگیری کند که خود منجر به نقص اسپرماتوژنز در بزرگسالی خواهد شد (۱۷ و ۱۸). وقوع نسبتا بالای ریزحذف های Y نشان می دهد که این کروموزوم مستعد از دست دادن خودبخودی ماده ژنتیکی است. ایجاد نوترکیبی نابجا بین نواحی همولوگ یا تکرارهای مشابه میان X و Y و یا درون Y از طریق تبادل نابرابر کروماتیدهای خواهری عوامل احتمالی در این قضیه بشمار میروند. نواحی AZF که در بخش یوکروماتینی بازوی بلند قرار دارند نقش مهمی در اسپرماتوژنز دارا می باشند و حذف در نواحی چهارگانه AZF می تواند منجر به آزو و الیگواسپرمی گردد.

خانواده های ژنی DAZ در ناحیه AZFc قرار دارد و بنا بر گزارشات شایع ترین ژن حذف شده مرتبط با ناباروری می باشد. این خانواده ژنی ۴ نسخه دارد. ژنهای DAZ پروتئین هایی را در بافت بیضه رمز می کنند که دارای موتیف^{۱۲} اتصال به RNA است و در متابولیسم RNA نقش تنظیمی دارد (۲۸). به دلیل شباهت زیاد میان توالی این ژن با ژنهای *dazl* در موش و *boule* در مگس سرکه، به نظر میرسد DAZ در طی تکامل حفظ شده است و دارای نقشی مشابه با ژنهای فوق، یعنی تنظیم چرخه سلولی میوزی باشد. این بدان معناست که مردانی که حذف DAZ دارند قادر به تولید اسپرم بالغ نمی باشند، اگرچه دیده شده که برخی الیگواسپرم ها حذف این ژن را نشان می دهند (۲۸ و ۲۹). وجود همولوگ فعال DAZ به نام DAZL که بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۳ قرار دارد و نیز وجود چندین کپی از ژن DAZ در ناحیه AZFc می تواند عاملی برای جلوگیری از فقدان کامل اسپرماتوژنز باشد.

ژن های RBMY (RBM1 و RBM2) که در AZFb قرار دارند شامل ۵۰-۲۰ ژن کاذب هستند که به همین دلیل تعیین نقش آن در اسپرماتوژنز چندان ساده نیست. ناحیه AZFb احتمالا دارای نسخه های فعال ژن RBMY است و وجود آن در هسته سلولهای زایای مردان نشان دهنده بیان اختصاصی آن در بیضه است. احتمال دارد که ژنهای RBM1 جهت باروری

وقوع این حذف ها را از جمله علل عمده در این امر بر شمرد. به علاوه همانگونه که ذکر شد شناسایی نوع و مکان این حذف ها دارای ارزش پیشگویی و تشخیصی است و در بعضی از موارد بسته به نوع حذف می تواند مانع از بکارگیری روش های تهاجمی و جراحی های غیر ضروری گردد. تشخیص زودرس در مورد بیماران جوانی که در خطر کاهش پیشرونده اسپرم می باشند نمونه ای از این موارد است که می توان با ذخیره و انجماد اسپرماتوزوآ^{۳۳} از انجام روش های تهاجمی مانند TESE/ICSI در آینده جلوگیری نمود در هر حال با توسعه روش هایی نظیر IVF و ICSI مردان نابارور زیادی امکان بچه دار شدن می یابند اما باید توجه داشت که روش های مزبور بر بهبود فرآیند اسپرماتوزنر تأثیری ندارند و این امکان وجود دارد که این نقص ژنتیکی به فرزندان ذکور در نسل های بعد انتقال یابد.

سپاسگزاری:

بدین وسیله از همکاری بخش IVF بیمارستان دی، مرکز درمانی ناباروری کوثر، مرکز تحقیقاتی و درمانی ناباروری یزد و پرسنل محترم مربوطه به جهت همکاری صمیمانه در انجام تحقیق قدردانی می گردد.

ژنوتیپ را در مورد ریزحذف های کروموزوم Y نشان می دهد. همانگونه که در تصویر مشاهده می شود حذف کامل AZFa، AZFb، AZFbc و AZFabc با سندروم SCO همراه است. حذف کامل ناحیه AZFb باعث توقف اسپرماتوزنر و عدم بلوغ اسپرم می گردد در حالیکه حذف ناحیه AZFc با فنوتیپ متغییری از الیگواسپرمی شدید تا آواسپرمی همراه است و حذف های جزئی در ناحیه اخیر هم میتواند باعث آواسپرمی شود و هم می تواند با فنوتیپ طبیعی همراه باشد (۳۰).

مطالعات انجام شده نشان می دهد در مردانی که دارای حذف کامل هر یک از نواحی AZFa، b، bc و یا abc باشند امکان بازیابی اسپرم از بافت بیضه وجود ندارد، در حالیکه در مورد حذف ناحیه c به تنهایی، ۷۵ درصد موارد TESE با موفقیت همراه بوده است (۱۸ و ۳۰). نتایج حاصل از این تحقیق نیز موید این امر است. با مراجعه به جدول ۲ مشخص می شود که در هیچیک از بیمارانی که مورد بازیابی اسپرم از بافت بیضه قرار گرفته اند، اسپرم بالغ بدست نیامده است و این شامل بیمارانی است که حذف کامل نواحی b، c و یا abc را نشان داده اند. حذف های جزئی در نواحی AZFa و b اگرچه بسیار نادر هستند ولی می توانند به فرزندان ذکور انتقال پیدا کنند. بررسی حاضر در این زمینه نتایج متناقضی داشته است چرا که دو نفر از بیماران (Inf50 و Inf53) تنها حذف یکی از دو مارکر منطقه AZFb یعنی sY127 را نشان می دهند و مبتلا به الیگواسپرمی هستند بنابراین حذف تنها باعث کاهش تولید اسپرم در این بیماران گردیده است و با استفاده از روش های موجود درمان ناباروری امکان انتقال این حذف به نسل بعد وجود دارد. از طرف دیگر بیمار دیگر (Inf52) علیرغم اینکه حذف مشابهی دارد ولی مبتلا به آواسپرمی است. بیوپسی بیضه در این بیمار نشان دهنده عدم بلوغ اسپرم می باشد و انجام TESE نیز منجر به دست یابی به اسپرم بالغ از بافت بیضه نگردید.

در مجموع و با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق و مطالعات مختلفی که تا کنون در زمینه بررسی نقش حذف های کروموزوم Y در ناباروری مردان انجام گرفته است، می توان

جدول ۱. مارکرهای STS مورد استفاده و توالی پرایمرهای مرتبط.

STS	ناحیه	اندازه (bp)	توالی پرایمر
<i>sY84</i>	<i>AZFa</i>	۳۲۶	AGA AGG GTC TGA AAG CAG GT GCC TAC TAC CTG GAG GCT TC
<i>sY86</i>	<i>AZFa</i>	۳۲۰	GTG ACA CAC AGA CTA TGC TTC ACA CAC AGA GGG ACA ACC CT
<i>sY127</i>	<i>AZFb</i>	۲۷۴	GGC TCA CAA ACG AAA AGA AA CTG CAG GCA GTA ATA AGG GA
<i>sY134</i>	<i>AZFb</i>	۳۰۱	GTC TGC CTC ACC ATA AAA CG ACC ACT GCC AAA ACT TTC AA
<i>sY254</i>	<i>AZFc</i>	۴۰۰	GGG TGT TAC CAG AAG GCA AA GAA CCG TAT CTA CCA AAG CAG C
<i>sY255</i>	<i>AZFc</i>	۱۲۶	GTT ACA GGA TTC GGC GTG AT CTC GTC ATG TGC AGC CAC

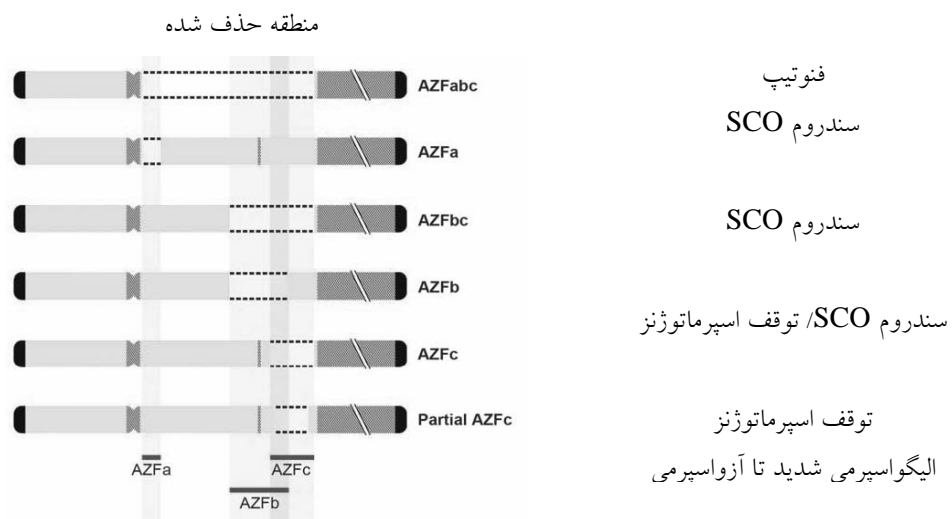
جدول ۲. مشخصات بیماران، نتایج آنالیزهای هورمونی، بیوپسی بیضه، منطقه و مارکر حذف شده، نوع و نتیجه درمان.

شماره بیمار	سن	آنالیز اسپرم	FSH (mIU/ml)	LH (mIU/ml)	بیوپسی بیضه	ناحیه حذف شده	مارکر حذف شده	نوع درمان	اسپرم
A1	۲۸	آزواسپرمی	۶۰	۱۲	-	AZFc	sY254,sY255	-	-
A8	۳۰	آزواسپرمی	۴۵	۱۰	-	AZFb,c	sY127,sY137,sY254,sY255	-	-
Inf4	۵۱	آزواسپرمی	۷۶	۱/۲	MA	AZFb	sY127,sY137	TESE	-
Inf6	۳۵	آزواسپرمی	۷۰	۱۰/۵	MA	AZFc	sY254,sY255	TESE	-
Inf13	۳۱	آزواسپرمی	۶۰	۱۷	MA	AZFb	sY127,sY137	TESE	-
Inf24	۲۴	آزواسپرمی	۳۰	۱۹	MA	AZFb	sY127,sY137	TESE	-
Inf35	۳۴	آزواسپرمی	۲۰	۱۲/۷	SCO	AZFa,b,c	sY84,sY86,sY127,sY137,sY254,sY255	TESE	-
Inf38	۳۸	آزواسپرمی	۲۵	۱۲	MA	AZFc	sY254,sY255	TESE	-
Inf52	۴۰	آزواسپرمی	۲۰	۱۸	MA	AZFb	sY127	TESE	-
Inf104	۳۱	آزواسپرمی	۴۰	۲۰	SCO	AZFa,b	sY84,sY134	-	-
Inf121	۲۹	آزواسپرمی	۱۰	۷/۵	SCO	AZFc	sY254,sY255	-	-
Y2	۲۸	آزواسپرمی	۳/۸۵	۷	-	AZFb	sY127,sY137	TESE	-
Y30	۳۱	آزواسپرمی	۳۵	۱۴	-	AZFb	sY127,sY137	TESE	-
Inf50	۳۷	لیگواسپرمی	۳۷	۲۰	-	AZFb	sY127	-	-
Inf53	۳۸	لیگواسپرمی	۱۲	۱۰	-	AZFb	sY127	-	-

MA: Maturation Arrest
SCO: Sertoli Cell Only
TESE: Testicular Sperm Extraction

جدول ۳. مقایسه میزان وقوع ریزحذف های کروموزوم Y در گزارشات پیشین با نتایج تحقیق حاضر

کشور	مرجع	تعداد بیماران دارای ریزحذف (%)	تعداد بیماران
ژاپن	۱۹	(۱۵/۸)۱۰	۶۳
ایران	۲۰	(۲۴/۲)۲۴	۹۹
انگلستان	۲۱	(۷/۸) ۴	۵۱
ایران	۲۲	(۵)۲	۴۰
ایتالیا	۲۳	(۲۱)۴	۱۹
تونس	۲۴	(۱۶) ۲۶	۱۶۳
ایرلند	۲۵	(۲/۵)۲	۷۸
اسپانیا	۲۶	(۱/۷) ۱	۵۸
ترکیه	۲۷	(۱۰) ۵	۵۰
ایران	تحقیق حاضر	(۱۲/۵)۱۵	۱۲۰



تصویر ۱. رابطه میان ژنوتیپ و فنوتیپ در حالت های مختلف ریزحذف های کروموزوم Y. حذف های کامل و جزئی در AZFc شایعترین الگوی گزارش شده هستند. حذف های جزئی در این ناحیه در هر جمعیت فنوتیپ های متفاوتی را نشان داده است (۳۰).

منابع

1. Huynh T, Mollard R, Trounson A. (2002) Selected genetic factors associated with male infertility. *Hum Reprod Update* 8: 183-198.
2. Ferlin A, Arredi B, Foresta C (2006) Genetic causes of male infertility. *Reprod Toxicol* 22: 133-141.
3. Krausz C, Forti G, McElreavey K (2003) The Y chromosome and male fertility and infertility. *Int J Androl* 26: 70-75.
4. Simoni M, Bakker E, Krausz C (2004) EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of y-chromosomal microdeletions. *Int J Androl* 27: 240-249.
5. Hopps CV, Mielnik A, Goldstein M, Palermo GD, Rosenwaks Z, Schlegel PN (2003) Detection of sperm in men with Y chromosome microdeletions of the AZFa, AZFb, and AZFc regions. *Hum Reprod* 18: 1660-1665.
6. Foresta C, Ferlin A, Rossi A, Salata E, Tessari A (2002) Alteration of spermatogenesis and Y chromosome microdeletions. Analysis of the DAZ gene family. *Alterazioni della spermatogenesi e microdelezioni del cromosoma Y. Anal della famiglia genica* 27: 193-207.
7. Oates RD, Silber S, Brown LG, Page DC (2002) Clinical characterization of 42 oligospermic or azospermic men with microdeletion of the AZFc region of the Y chromosome, and of 18 children conceived via ICSI. *Hum Reprod* 17: 2813-2824
8. Kuhnert B, Gromoll J, Kostova E, Tschanner P, Luetjens CM, Simoni M (2004) Natural transmission of an AZFc Y-chromosomal microdeletion from father to his sons. *Hum Reprod* 19: 886-888.
9. WHO (1992). *Who laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction*. Cambridge, UK: Cambridge university press.
10. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nuc Acid Res* 16:1215.
11. Retief AE, Van Zyl JA, Menkveld R, Fox MF, Kotze GM, Brusnick J (1984) Chromosome studies in 496 infertile males with a sperm count below 10 million/ml. *Hum Genet* 66:162-4.
12. Matsuda T, Horii Y, Ogura K, Nonomura M, Okada K, Yoshida O (1992) Chromosomal survey of 1001 subfertile males with chromosomal anomalies. *Hinyokika Kyo* 38:803-9.
13. Van Assche E, Bonduelle M, Tournaye H, Joris H, Verheyen G, Devroey P (1996) Cytogenetics of infertile men. *Hum Reprod* 11:1-26.
14. Peterlin B, Kunej T, Sinkovec J, Gligorievska N, Zorn B (2002) Screening for Y chromosome microdeletions in 226 slovenian sub-fertile men. *Hum Reprod* 17:17-24.
15. Mulhall JP, Reijo R, Alagappan R, Brown L, Page D, Carson R (1997) Azoospermic men with deletion of the DAZ gene cluster are capable of completing spermatogenesis: Fertilization, normal embryonic development and pregnancy occur when retrieved testicular spermatozoa are used for intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 12:503-8.
16. Pryor JL, Kent-First M, Muallem A, Van Bergen AH, Nolten WE, Meisner L (1997) Microdeletions in the Y chromosome of infertile men. *N Engl J Med* 336:534-9.
17. Simoni M, Kamische A, Nieschlang E (1998) Current status of the molecular diagnosis of Y chromosome microdeletions in the work-up of male infertility. *Hum Reprod* 13:1764-8.
18. Simoni M, Bakker E and Krausz C (2004) EAA/EMQN best practise guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions. State of the art 2004. *Int J Androl* 27:240-249.
19. Kobayashi K, Mizuno K, Hida A, Komaki, R, Tomita K, Matsushita I, (1994) PCR analysis of the Y-chromosome long arm in azospermic patients: evidence for a second locus required for spermatogenesis. *Hum Mol Genet* 3:1965-7.
20. Omrani MD, Samadzade S, Bagheri M (2005) Ychromosome microdeletions in idiopathic infertile men from west Azarbaijan. *Urol J* 3(1): 38-42.
21. Qureshi SJ, Ross AR, Cooke HJ, Intyre M, Chandley AC, Hargreave TB (1996) Polymerase chain reaction screening for Y chromosome microdeletion: a first step towards the diagnosis of genetically-determined spermatogenic failure in men. *Mol Hum Reprod* 2:775-9.
22. Akbari Asbagh F, Sina A, Najmabadi H, Akbari MT, Tabaroki A, Pourmand GH (2003) Prevalence of Y chromosome microdeletions in Iranian infertile men. *Acta Med Iranica* 41(3): 164-170.
23. Stuppia L, Mastroprimiano G, Calabrese G, Peila R, Tenaglia R, Palka G (1996) Microdeletions in interval 6 of the Y chromosome detected by STS-PCR in 6 of 33 patients with

idiopathic oligo- or azoospermia. *Cytogenet Cell Genet* 72:155-158.

24. Hadj-Kacem L, Hadj-Kacem H, Ayadi H, Ammar-Keskes L, Chakroun-Fki N, Rebai T, Bahloul A, Mhiri MN (2006) Screening of Y chromosome microdeletions in Tunisian infertile men. *Arch androl* 52:169-174.
25. Friel A, Houghton JA, Maher M, Smith T, Noeel S, Nolan A, Egan D, Glennon M (2001) Molecular detection of Y chromosome microdeletions: an Irish study. *Int j androl* 24:31-36.
26. Buch B, Gala JJ, Lara M, Ruiz R, Segura C, Real LM, Martinez-Moya M, Ruiz A (2003) Scanning of Y-chromosome azoospermia factors loci using real-time polymerase chain reaction and melting curve analysis. *Fertil Steril* 80(4): 907-913.
27. Zamani AG, Kutlu R, Durakbasi-Dursun H, Gorkemli H, Acar A (2006) Y chromosome microdeletions in Turkish infertile men. *Ind J Hum Genet* 12(2): 66-71.
28. Briton-Jones C, Haines CJ (2000) Microdeletions on the long arm of the Y chromosome and their association with malefactor infertility. *Hong Kong Med J* 6:184-9.
29. Feng HL (2003) Molecular biology of male infertility. *Archiv Androl* 48:19-27.
30. Sadeghi-Nejad H, Farrokhi F (2007) Genetics of Azoospermia: Current Knowledge, Clinical Implications, and Future Directions. *Urol J* 4:192-206.