

بررسی ریزحذف نواحی از کروموزوم Y در مردان با ناباروری مبتلا به الیگواسپرمی شدید یا آزواسپرمی مراجعه کننده به بیمارستان امام رضا (ع) مشهد

ملیحه کشوری شیروان^{۱،۲}، رحیم تقوی رضوی زاده^{۱،۲*}، حامی اشرف^۳

۱- گروه ارولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی مشهد، مشهد، ایران

۲- بخش ارولوژی، بیمارستان امام رضا (ع)، مشهد، ایران

۳- دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی مشهد، مشهد، ایران

چکیده

زمینه و هدف: نیمی از علل ناباروری به دلیل عوامل مردانه است که از مهمترین آنها نقایص ژنتیکی است. ریز حذف نواحی از کروموزوم Y در ۷٪ مردان نابارور دیده می‌شود که با انتخاب ویژه بیماران بروز آن افزایش می‌یابد. اهمیت این حذف‌های ژنی در احتمال انتقال آن به نسل بعد به دنبال استفاده از روش‌های کمک باروری است. هدف از این مطالعه بررسی بروز ریزحذف‌های ناحیه AZF در جمعیت خراسان و نیز فاکتورهای دخیل در بروز آن بود. روش بررسی: این مطالعه که توصیفی-تحلیلی از نوع مقطعی می‌باشد روی مردان نابارور مراجعه کننده به بیمارستان امام رضا (ع) مشهد طی سال‌های ۸۷-۸۵ انجام شد. برای ۴۷ مرد نابارور با الیگواسپرمی شدید یا آزواسپرمی غیر انسدادی، آزمایش کاریوتایپینگ، بررسی ریزحذف نواحی کروموزوم Y، اندازه‌گیری سطوح هورمونی به‌ویژه FSH و بیوپسی بیضه انجام شد. بررسی حذف ژنی با ۱۱ جفت پرایمر مختص نواحی AZF و SRY به روش STS انجام شد. آنالیز داده‌ها به کمک نرم افزار SPSS ویرایش ۱۳ انجام شد. در توصیف داده‌ها از نمودارها و جداول آماری استفاده شد و در تحلیل نیز آزمون χ^2 ، دقیق فیشر، من ویتنی و غیره بکار رفتند. $p < 0/05$ سطح معنی‌داری آزمون در نظر گرفته شد.

نتایج: سه مورد از چهار بیمار (۸/۵٪) دارای حذف نواحی از کروموزوم Y آزواسپرم بودند. حذف SRY و سندرم کلاین فلتر هر کدام در ۲ مورد (۴/۳٪) وجود داشت که هر ۴ بیمار اخیر آزواسپرم بودند. حذف چندتایی AZF در ۷۵٪ بیماران (۳ بیمار از ۴ نفر) ملاحظه شد. حذف‌های AZFa و AZFb و AZFc در ۲۵٪، ۵۰٪ و ۱۰۰٪ از بیماران ملاحظه گردید. بیماران از لحاظ سطح FSH خون به دو گروه اختلال هورمونی و بدون آن تقسیم شدند، که حذف AZF در این دو به ترتیب ۱۷/۶٪ و ۳/۳٪ بود ($p=0/128$). در بیماران آزواسپرم و الیگواسپرم شدید، حذف AZF به ترتیب ۱۱/۱٪ و ۵٪ بود ($p=0/626$). همچنین تفاوت معنی‌داری در حذف AZF در مبتلایان به واریکوسل با سایرین مشاهده نشد. سابقه فامیلی نیز تاثیر معنی‌داری در بروز حذف نواحی کروموزوم Y نداشت. ۳ مورد از ۴ مورد حذف AZF که بیوپسی بیضه انجام شده بود، دچار سندروم سلول‌های سرتولی (SCOS) بودند. نتیجه گیری: شیوع حذف نواحی از کروموزوم Y در ناباروری با عامل شدید مردانه بالا است و به‌ویژه از این نظر که شانس انتقال این نقص به فرزند به دنبال استفاده از روش‌های کمک باروری وجود دارد، لزوم ارزیابی آن در موارد الیگواسپرمی شدید ($< 5 \text{ million/ml}$) یا آزواسپرمی غیر انسدادی روشن می‌شود.

* مسئول مکاتبه: رحیم تقوی
رضوی زاده، بخش ارولوژی، بیمارستان امام رضا (ع)، مشهد، ایران
رایا نامه:
taghavir@mums.ac.ir
دریافت: ۸۸/۱۰/۱۵
پذیرش: ۸۹/۲/۲۱

کلید واژگان: آزواسپرمی، الیگواسپرمی، الیگواسپرمی شدید، حذف نواحی کروموزوم Y، ناباروری.

نحوه استناد به این مقاله: کشوری شیروان ملیحه، تقوی رضوی زاده رحیم، اشرف حامی. بررسی ریزحذف نواحی از کروموزوم Y در مردان با ناباروری مبتلا به الیگواسپرمی شدید یا آزواسپرمی مراجعه کننده به بیمارستان امام رضا (ع) مشهد. فصلنامه باروری و ناباروری: سال ۱۱ (۱۳۸۹)، شماره ۴، صفحات: ۲۶۷-۲۵۹.

زمینه و هدف

بررسیها نشان می‌دهد که ۱۰٪ زوجها از ناباروری رنج می‌برند و حدود نیمی از موارد ناباروری به علت اختلال

اسپرماتوژنز است. از مهمترین علل اختلالات اسپرماتوژنز، نقایص ژنتیکی است و از جمله نقایص ژنی مسئول در ناباروری، ریزحذف نواحی ژنی^۱ در کروموزوم Y است که در بازوی بلند آن رخ می‌دهد و در موارد غیرانتخابی، در حدود ۷٪ مردان نابارور دیده می‌شود. البته با انتخاب بیماران به گروه‌های آزواسپرم و الیگواسپرم شدید به ترتیب درصد فراوانی ۱۳٪ و ۳-۷٪ است (۱). آنالیز حذف نواحی از کروموزوم Y به طور معمول به روش PCR^۲، STS^۳ با پرایمرهای نواحی مختلف در ناحیه داخلی قسمت ۶ یا اینترنال ۶^۴ انجام می‌شود و در مطالعات مختلف شیوع آن ۵۵-۰٪ در جمعیت‌های مردان نابارور به دست آمده است. به نظر می‌رسد که تفاوت در مقادیر بروز ۶ مربوط به عوامل مختلف مانند انتخاب بیماران بر حسب شدت اختلال در تعداد اسپرم، نوع اختلال اسپرم، تعداد پرایمرهای مورد استفاده در آزمایش، شدت اختلال هورمونی همراه و تفاوت‌های منطقه‌ای می‌باشد (۱).

بیشترین اهمیت بررسی حذف‌های AZF^۵ از آنجا ناشی می‌شود که شانس انتقال آن به فرزند به‌ویژه در موارد استفاده از روش‌های کمک باروری (ART)^۶ و حتی به صورت بروز موارد جدید در فرد^۷ وجود دارد.

مطالعه‌ای توسط Tu و همکاران برای مشخص نمودن حذف‌های AZF در فوجیان چین انجام شد. در ۴۹ بیمار غربال شده از میان ۲۴۰ بیمار الیگواسپرمی شدید و ۲۷۲ آزواسپرم، از روش STS برای موارد AZFa و AZFb و AZFc استفاده شد. در برخی از بیماران نیز برای مشخص کردن پلی‌مورفیسیم‌های تک نوکلوتیدی از روش SNV^۸ استفاده شد (۲).

Cai و Wan بررسی مشابهی در شانگتو چین روی نقش حذف‌های ناحیه AZFc کروموزوم Y در ناباروری مردان انجام دادند (۳).

در مقاله‌ای مروری که صادقی نژاد، درباره کروموزوم Y و نقش آن در ناباروری‌های مردانه منتشر کرد، ضمن بیان ارتباط یافته‌های نقشه مولکولی کروموزوم با حالات بالینی نقص اسپرماتوژنیک شدید، نقش ریز حذف نواحی از کروموزوم Y در نقایص اسپرماتوژنز را مورد بحث قرار داد (۴). در ایران تنها یک مورد مطالعه مشابه در آذربایجان غربی انجام شده است. در این مطالعه ۹۹ بیمار با آزواسپرمی یا الیگواسپرمی شدید و سطوح بالای هورمون‌های محرک فولیکولی (FSH) و هورمون لوتئینی کننده (LH) و سطح پایین تستوسترون در مقابل یک گروه ۱۰۰ نفره از مردان سالم وارد مطالعه شدند و از پرایمرهایی با توان تشخیص منطقه AZF، DAZ و نیز ژن‌های منطقه تعیین کننده جنسیت کروموزوم Y (SRY)^۹ استفاده شد (۵).

هدف از طراحی مطالعه حاضر، بررسی بروز ریز حذف‌های نواحی در AZF در جمعیت خراسان و نیز عوامل مختلف دخیل در بروز آن از جمله شدت اختلال هورمونی همراه، تعداد اسپرم، وجود سابقه فامیلی ناباروری و بیماری‌های همراه است. نتایج این بررسی می‌تواند راه گشای مهمی در هنگام مشورت با زوجین نابارور به ویژه قبل از استفاده از روش‌های کمک باروری باشد.

روش بررسی

در طی سال‌های ۸۷-۸۵ زوجین نابارور مراجعه کننده به بیمارستان امام رضا (ع) در شهر مشهد تحت بررسی قرار گرفتند. مردانی که دچار الیگواسپرمی شدید و یا تعداد کمتر از ۵ میلیون اسپرم در هر میلی‌لیتر مایع منی، یا آزواسپرم بودند و علت انسدادی ناباروری در آنها رد شده بود، تحت ارزیابی هورمونی شامل FSH، LH و تستوسترون قرار گرفتند و در صورت طبیعی بودن آزمایشات جهت انجام آزمون کاریوتایپ و بررسی وجود حذف نواحی از کروموزوم Y به بیمارستان امام رضا (ع) ارجاع شدند. آزمایش بیماران در آزمایشگاه کلینیک ویژه بیمارستان قائم و آزمایشگاه پردیس شهر مشهد انجام شد.

- 1- Microdeletion
- 2- Polymerase Chain Reaction
- 3- Sequence-Tagged Sites
- 4- Internal 6
- 5- Azoospermia Factor
- 6- Assistant Reproductive Technology
- 7- Denovo
- 8- Single Nucleotide Variant

9- Sex Determining Region on Y Chromosome

نتایج

میانگین سنی بیماران مورد مطالعه $27/8 \pm 5/8$ سال (۱۹-۴۵ سال) بود. در میان بیماران ۳ مورد (۶/۴٪) سابقه فامیلی ناباروری وجود داشت و در ۸/۵٪ بیماران (۴ بیمار) صفات ثانویه جنسی غیر طبیعی مشاهده شد. از میان بیماران، ۵۷/۴٪ آزواسپرم و ۴۲/۶٪ لیگواسپرم شدید بودند. مقدار FSH در ۶۳/۸٪ بیش از حد طبیعی و میزان LH در ۷۴/۵٪ کاهش نشان می‌داد. در ۳۶/۲٪ تستوسترون کمتر از میزان طبیعی بود (جدول ۱ و ۲).

برای مقادیر FSH در دو گروه دچار آزواسپرمی و لیگواسپرمی شدید از آزمون غیر پارامتری من ویتنی استفاده شد. میانگین FSH در کل مردان مبتلا به ناباروری $16/8 \pm 21/8 mIU/ml$ ، در لیگواسپرمها $8/8 \pm 9/9 mIU/ml$ و در گروه دچار آزواسپرمی $22/7 \pm 26/2 mIU/ml$ بود که اختلاف معنی‌داری بین دو گروه ملاحظه گردید ($p=0/030$).

میانگین LH در کل مبتلایان $11/3 \pm 13/9 mIU/ml$ ، در مردان مبتلا به لیگواسپرمی $6/5 \pm 6/8 mIU/ml$ و در گروه دچار آزواسپرمی $14/8 \pm 16/6 mIU/ml$ بود که اختلاف بین دو گروه معنی‌دار بود ($p=0/041$).

در مورد تستوسترون نیز مقادیر دو گروه لیگوآزواسپرم به ترتیب $40/7 \pm 173/6 ng/dl$ و $14/8 \pm 173/3 ng/dl$ بود ($p=0/002$).

در ۶۳/۸٪ بیماران یافته‌ای به نفع علل ثانویه ناباروری گزارش نگردید. ۲۱/۳٪ بیماران (۱۰ بیمار) دچار اریکوسل بالینی، ۱۰/۶٪ بیماران (۵ بیمار) دچار ژنیکوماستی و ۴/۳٪

جدول ۱. مقایسه بروز حذف نواحی از کروموزوم Y بین گروه‌های آزواسپرم و لیگواسپرم شدید در مراجعین به بیمارستان امام رضا (ع) مشهد، ۸۷-۱۳۸۵

وضعیت اسپرموگرام	حذف نواحی از کروموزوم Y				مجموع
	مثبت		منفی		
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد درصد
آزواسپرمی	۲۴	۸۸/۹	۳	۱۱/۱	۲۷ ۱۰۰
لیگواسپرمی شدید	۱۹	۹۵	۱	۵	۲۰ ۱۰۰
مجموع	۴۳	۹۱/۵	۴	۸/۵	۴۷ ۱۰۰

$p=0/626$, Odds ratio= $0/421 (0/040-4/279)$

در مجموع ۴۷ بیمار در محدوده سنی ۴۵ - ۱۹ سال تحت ارزیابی قرار گرفتند. از بیماران نمونه هپارینه خون، جهت بررسی کروموزومی، و نمونه خون محیطی حاوی EDTA، برای انجام PCR، گرفته شد. بررسی سیتوژنتیک روی لنفوسیت‌های خون محیطی با تکنیک‌های استاندارد GTC Binding انجام و لام‌های مربوطه توسط یک متخصص ژنتیک مورد ارزیابی قرار گرفت.

DNA ژنومیک لکوسیت‌های محیطی با کیت Nucleon II استخراج گردید و دسته‌ای از STS مختص Y مربوط به ناحیه یوکروماتیک بازوی بلند کروموزوم Y از سانترومر تا بخش ۷ با توجه خاص به ناحیه داخلی قسمت اینترنال ۶ (ناحیه AZF) در هر بیمار بررسی شد. برای بررسی ناحیه PCR، AZFa برای ارزیابی محل‌های SY83 و SY121 انجام گردید. ناحیه AZFb با پرایمرهای مربوط به محل‌های SY127 و SY134 و SY143 بررسی شد در نهایت برای ناحیه AZFc از پرایمرهای SY149 و SY202 و SY231 و SY254 و SY255 استفاده گردید. به علاوه SY14 برای محل تعیین کننده جنسیت در کروموزوم Y بکار رفت.

برای انجام آزمون کاریوتایپ از میکروسکوپ فلورسنت (Olympus, Germany) آنالیز کروموزومی نرم افزار سیتوژن (Cytogen, USA) استفاده شد.

استخراج DNA با کیت Qiagen (Qiagen, Netherland)، PCR با دستگاه Techne (Techne, England) و الکتروفورز با دستگاه تولید پایا پژوهش (پایا پژوهش، ایران) انجام شد.

برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها بعد از مرتب نمودن آنها و کد گذاری، از نرم افزار SPSS و در بخش توصیفی از نمودارها و جداول آماری استفاده شد و در بخش استنباطی نیز آزمون χ^2 دقیق فیشر و من ویتنی بکار رفت. در هر مورد با توجه به حجم نمونه اصلاحات در آزمون مربوطه انجام شد نظیر آزمون دقیق فیشر.

لازم به ذکر است انجام بیوپسی در موارد ذکر شده جزو روند معمول درمان بود. اما خونگیری و آزمایش‌های ژنتیکی بیمار بعد از توضیح کامل و اخذ رضایت آگاهانه از بیماران، و از محل هزینه‌های طرح صورت گرفت و سطح معنی‌داری مورد استناد ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

جدول ۲. مقایسه بروز حذف نواحی از کروموزوم Y بین گروه‌های دارای سابقه فامیلی ناباروری و بدون آن در مراجعین به بیمارستان امام رضا (ع) مشهد، ۸۷-۱۳۸۵

سابقه فامیلی ناباروری	حذف نواحی از کروموزوم Y					
	مثبت		منفی		مجموع	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
عدم سابقه فامیلی	۴۱	۸۷/۲	۳	۶/۴	۴۴	۹۳/۶
وجود سابقه فامیلی	۲	۴/۳	۱	۲/۱	۳	۶/۴
مجموع	۴۳	۹۱/۵	۴	۸/۵	۴۷	۱۰۰

$$p=0.239, \text{Odds ratio}=\frac{1/823}{0/477-98/811}$$

بیماران (۲ بیمار) دارای کریپتواریکیدیسم بودند.

از ۱۳ بیمار (۲۷/۷٪) بیوپسی بر پایه اندیکاسیون‌های رایج به عمل آمد. ۹ بیمار دچار سندرم سلول‌های سرتولی (SCOS) و ۴ بیمار دچار توقف مراحل بلوغی اسپریماتوژنز بودند که در ۲ بیمار توقف در مرحله اسپریماتید و در ۲ بیمار توقف در مرحله اسپریماتوسیت بود. اختلال کاریوتایپی در ۲ بیمار (۴/۳٪ بیماران) مشاهده شد که هر دو آزواسپرم و کلاین فلتر بودند؛ ولی در این موارد حذف نواحی کروموزوم Y مشاهده نشد.

حذف ناحیه SRY روی بازوی کوتاه در ۲ بیمار (۴/۳٪ بیماران) مشاهده شد که هر دو آزواسپرم بودند؛ ولی حذف نواحی از کروموزوم Y نداشتند. در مجموع ۴ بیمار دچار

جدول ۳. میزان بروز حذف نواحی از کروموزوم Y در مردان نابارور در نواحی مختلف دنیا

کشور	درصد بروز	کشور	درصد بروز
ترکیه	۱۱/۲ تا ۵/۶	مراکش	۳/۵
چین	۱۷ تا ۷/۶	صربستان	۱۵/۶ تا ۵/۴
کویت	۲/۶	کرواسی	<۱
هند	۵	چک	۴
ژاپن	۷/۱	ایتالیا	۱۴/۴
تایوان	۱۱/۷	آلمان	صفر
آذربایجان غربی	۲۴/۲	نیوزلند	۵/۵
تونس	۶/۸۵	---	---

1- Sertoli Cell-Only Syndrome

حذف نواحی از کروموزوم Y بودند. سه مورد آزواسپرمی و یک مورد الیگواسپرمی شدید داشتند (جدول ۱) که در بیوپسی انجام شده در بیماران همگی دچار SCOS بودند. در هر ۴ مورد آنها حذف در ناحیه AZFc وجود داشت. حذف AZFb در ۵۰٪ بیماران (دو بیمار) و حذف AZFa در ۲۵٪ بیماران (فقط در یک بیمار)، مشاهده شد.

همانطور که ملاحظه می‌گردد بروز حذف نواحی از کروموزوم Y بین دو گروه آزواسپرم و الیگواسپرم شدید اختلاف معنی‌دار نداشت.

همچنین بیماران از نظر تأثیر سابقه فامیلی نیز بررسی شدند و به طوری که ملاحظه می‌شود وجود سابقه فامیلی ناباروری ارتباط معنی‌داری از لحاظ آماری با بروز ریزحذف کروموزوم Y ندارد (جدول ۲).

بحث

اولین بار که کروموزوم Y را موثر در اسپریماتوژنز یافتند به سال ۱۹۷۶ بر می‌گردد که ۶ مرد دچار آزواسپرمی دچار فقدان بازوی بلند یا کوتاه کروموزوم Y در کاریوتایپ بودند. Zoffardi و Tiepolo بعدها ناحیه‌ای از این بازو را که مسئول در ناباروری بود، AZF (فاکتور آزواسپرمی) نامیدند (۱). با مروری بر مقالات چاپ شده در Pub Med (۱۵-۶) مقادیر بروز در کشورهای مختلف در مردان نابارور به صورت ذکر شده در جدول ۳ می‌باشد:

به طور کلی در جمعیت‌های مختلف مردان نابارور مقادیر ۵۵-۰/۴٪ بدست آمده است. به نظر می‌رسد تفاوت در این مقادیر بروز مربوط به عوامل مختلف از جمله انتخاب بیماران بر حسب شدت اختلال در تعداد اسپرم، اتیولوژی اختلال اسپرم، تفاوت‌های ناحیه‌ای و تعداد پرایمرهای مورد استفاده باشد (۱۵-۶).

حدود ۱۳٪ مردان آزواسپرم و ۷-۳٪ مردان نابارور دچار الیگواسپرمی شدید، واجد حذف در ناحیه AZF از بازوی بلند کروموزوم Y هستند (۶). در مطالعه حاضر نیز بروز ۸/۵٪ در حذف نواحی از کروموزوم Y در مردان با آزواسپرمی یا الیگواسپرمی شدید به دست آمد که با تفکیک به گروه‌های آزواسپرم و الیگواسپرمی شدید به ترتیب مقادیر بروز

تفاوت‌های موجود بین مطالعات مختلف در ارزیابی ریز حذف نواحی، به دلیل معیارهای گوناگون بالینی برای ورود به مطالعه باشد که توسط گروه‌های مختلف تحقیقاتی مورد استفاده قرار گرفته است. در مطالعه عمرانی و همکاران بررسیها تنها روی مردان واجد کاریوتایپ طبیعی (XY، ۴۶) صورت گرفت و موردی از کلاین فلتر گزارش نشد (۵).

در بررسی دیگری که Tu و همکاران جهت تعیین خصوصیات حذف AZF انجام دادند، از میان ۶ بیمار واجد حذف در AZFb+c، ۱ بیمار دارای حذف SY98/Sy1206، ۴ بیمار دارای نوترکیبی P5/distal-P1 و ۱ بیمار دارای نوترکیبی P4/distal-P1 است. همچنین از میان ۳ بیمار واجد حذف AZFb، ۱ بیمار حذف P5/P3 و ۲ بیمار نوترکیبی P5/proximal-P1 را همراه حذف DAZ1 و DAZ2 نشان دادند. تعدادی از بیماران واجد حذف‌های AZFb و AZFb+c در بیوپسی بیضه خود الیگواسپرمی و نقص اسپرماتوژنز را نشان دادند (۲).

در اکثر مطالعات همراهی بین حذف در AZF با اختلال شدید پاتولوژی بیضه یافت شده است (۱۲، ۱۳) و حتی گاهی نوع حذف بر شدت و نوع پاتولوژی موثر بوده است. در بررسی که Tu و همکاران انجام دادند، تعدادی از بیماران واجد حذف‌های AZFb و AZFb+c در بیوپسی بیضه خود الیگواسپرمی و نقص اسپرماتوژنز را نشان دادند (۲). اما اغلب افراد دچار حذف AZF واجد پاتولوژی SCOS یا توقف بلوغ بوده‌اند. در مطالعه کنونی نیز در ۳ مورد از چهار موردی که واجد حذف نواحی از کروموزوم Y بودند در پاتولوژی بیضه SCOS مشاهده شد.

چنانکه از مقالات مشخص می‌شود اثر نوع حذف در AZF بر پاتولوژی و نتایج اسپرماتوگرام متفاوت است. در مطالعه Lu و همکاران، همراهی خوب بین یافته‌های پاتولوژی و نتایج اسپرموگرام دیده شد (۱۷) و Chiang و Hopps تناسب بالینی خوبی بین بالین و نواحی مختلف حذف AZF مشاهده کردند (۱۸، ۱۹). اما در مطالعه Imken ارتباطی با پاتولوژی مشاهده نشد (۲۱). در مطالعه دیگری در مورد نقش حذف نسبی ناحیه AZF ارتباطی بین حذف AZFc و نقایص اسپرماتوژنز مشاهده نشده است (۲۱) ولسی Wan در

۱۱/۱٪ و ۵٪ بدست می‌آید. هرچند که در مقایسه آماری، این دو میزان تفاوت معنی‌داری نداشتند؛ اما این امر می‌تواند به علت حجم نمونه کم در گروه‌های تحت مطالعه باشد.

در مطالعه Ng و همکاران که روی ۲۹۵ مرد با اختلال در قدرت باروری^۱ چینی صورت گرفت، فراوانی آنومالی‌های کروموزومی در گروه‌های آزواسپرمی غیر انسدادی، الیگواسپرمی خیلی شدید و الیگواسپرمی شدید، ۲/۱٪، ۵/۷٪ و ۱/۵٪ و فراوانی حذف نواحی از کروموزوم Y در این گروه‌ها به ترتیب ۸/۵٪، ۸/۲٪ و ۰٪ بود. بر اساس یافته‌های این مطالعه قبل از ART، بر انجام توام آزمایش کاریوتایپ و ارزیابی حذف نواحی از کروموزوم Y در مورد مردان با اختلال در قدرت باروری، که تعداد اسپرم آنها در مایع منی ۲ million/ml یا کمتر است تأکید شده است (۱۶).

در مطالعه‌ای که در استان آذربایجان غربی توسط عمرانی و همکاران صورت گرفت، ۱۵/۴٪ از بیماران مبتلا به الیگواسپرمی و ۳۰٪ از بیماران آزواسپرمیک دارای حذف نواحی از کروموزوم Y در ناحیه AZF بودند (۵) که به طور قابل ملاحظه‌ای از ارقام مربوط به مطالعه حاضر بالاتر است (۱۵/۴٪ در مقابل ۵٪) و (۳۰٪ در مقابل ۱۱/۱٪). ممکن است این تفاوت به سبب نژادهای متفاوت بیماران (کرد و آذری) در مطالعه مزبور باشد که نشانگر شیوع نسبتاً بالای حذف نواحی از کروموزوم Y در استان آذربایجان غربی است. علیرغم میزان بالاتر ارقام حاصل، در مطالعه کنونی و آذربایجان غربی الگوی مشابهی در حذف از لحاظ ترتیب ناحیه‌های حذف با توجه به فراوانی آنها دیده می‌شود (۸۷/۵٪ در AZFc در برابر ۱۰۰٪) (۲۹/۲٪ در AZFb در مقابل ۵۰٪) (۰٪ در AZFa در مقابل ۲۵٪). البته باید توجه داشت که در هیچیک از بیماران مطالعه آذربایجان غربی حذف در ناحیه AZFa مشاهده نشد. همچنین هیچکدام از این بیماران دارای ریز حذف نواحی در ژن SRY نبودند. در مطالعه حاضر ۲ بیمار (۴/۳٪ بیماران) واجد این حذف بودند. در عوض آنان در ۱۶/۷٪ بیماران حذف‌هایی را در بخش پروگزیمال ناحیه AZF، نزدیک به ژن SRY یافتند که احتمال می‌رود بر عملکرد ژن SRY تاثیر گذارند. ممکن است

1- Sub fertile

مطالعه‌اش نقص‌های نسبی این ناحیه را با ناباروری مرتبط دانسته است (۲۲).

در بررسی دیگری که Liu و همکاران در سال ۲۰۰۸ روی ۳۵ بیمار واجد حذف نواحی از کروموزوم Y در چین انجام دادند، براساس حذف نواحی کروموزوم، بیماران به چند گروه تقسیم شدند. ۵ نفر دارای حذف AZFa+b+c در گروه ۱، ۴ نفر دارای حذف AZFb+c و ۳ نفر دارای حذف AZFb در گروه ۲ و ۲۳ نفر دارای حذف AZFc در گروه ۳ جای گرفتند. بیوپسی و بررسی هیستوپاتولوژی برای ۶ بیمار انجام شد. در گروه ۱ هیچ سلول اسپرماتوژنیکی دیده نشد و تنها سلول‌های سرتولی در یک بیمار دیده شد. در گروه ۲، در تست سلول‌های اسپرماتوسیت^۱ در ۶ نفر دیده شد که ۲ مورد توسط بیوپسی تایید گشت و معلوم شد سلولها در مرحله اسپرماتوسیت اولیه متوقف شده‌اند. در گروه ۳، سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه در ۵ بیمار الیگواسپرمیک مشاهده شد اما هیچ سلول اسپرماتوژنیکی در ۱۵ بیمار آزواسپرمیک دیده نشد و یافته‌های بیوپسی ۲ مورد ابتلاء به سندرم SCOS را نشان داد. آنان نتیجه گرفتند که بررسی سلول‌های اسپرماتوژن می‌تواند روش موثری در ارزیابی عملکرد اسپرماتوژن بیماران واجد حذف AZF باشد (۲۳).

به نظر می‌رسد که نوع بررسی و تعداد پرایمرهای مورد استفاده در آزمایش ریز حذف نواحی، بر مقادیر بروز تاثیر داشته باشد. امروزه روش‌های سریع مثل آنچه Liu انجام داده، با دقت کافی قادر به تشخیص ریز حذف نواحی AZF هستند (۲۴).

در برخی مطالعات مانند مطالعه Pada عنوان شده که میزان ریز حذف نواحی در اسپرم بیشتر از میزان آن در خون است (۲۵). همچنین در مطالعه‌ای که Sakthivel و همکاران در هند انجام دادند به این نتیجه رسیدند که جهت تعیین حذف‌های بازوی بلند کروموزوم Y استفاده از سلول‌های زایا بر خون ارجح است (۲۶).

علاوه بر نواحی سه گانه a, b, c ناحیه دیگری موسوم به d نیز در AZF شناخته شده است. به عنوان مثال این ناحیه در مطالعه Muslumanoglu در ناباروری نقش داشته است (۲۷).

در مطالعه‌ای که Karaer و همکاران در ترکیه روی زوج‌های دچار سقط مکرر (RPL)^۲ در مقایسه با زوج‌های بارور سالم انجام دادند، مناطق AZFb و AZFd را مورد ارزیابی قرار دادند و مشاهده کردند که ۱۶٪ مردان از زوج‌های مبتلا به سقط مکرر دارای ریزحذف نواحی در یک یا بیش از یکی از مناطق مورد بررسی بودند؛ درحالیکه هیچیک از مردان زوج‌های عادی ریزحذف نواحی نداشتند ($p < 0.05$) (۲۸).

به نظر می‌رسد که حذف‌های AZF قابل انتقال باشند. موارد زیادی از گسترش فامیلی نیز گزارش شده‌اند (۲۹،۳۰). علاوه بر ناباروری، AZF را با موارد متعددی مرتبط دانسته‌اند. در مطالعات مختلف ارتباط آن با سرطان یا همراهی آن با ابهام جنسی و سندرم ترنر دیده شد (۳۱-۳۳). در مورد پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه حاضر، شانس تعیین ریز حذف نواحی از کروموزوم Y در خون محیطی حدود ۹۰٪ تعیین شد که با توجه به اینکه در مطالعات شانس حضور حذف AZF در اسپرم بیش از خون گزارش شده است (۲۵،۳۴) به نظر می‌رسد مقدار واقعی بروز ریز حذف نواحی در مطالعه حاضر می‌تواند بیشتر باشد. اما باید خاطر نشان کرد که انتخاب بیماران از تعداد آنالیز STS مهمتر است.

در اکثر مطالعات شایع‌ترین نوع حذف در ناحیه AZFc و به دنبال آن AZFb است. در مطالعه کنونی نیز حذف نواحی AZFa و AZFb و AZFc به ترتیب در ۲۵٪ و ۵۰٪ و ۱۰۰٪ موارد مثبت گزارش شد که حذف چندتایی در ۷۵٪ موارد وجود داشت. براساس مطالعات هرچه تعداد حذفها بیشتر باشد، شانس حصول اسپرم در بیضه کمتر می‌شود.

در مطالعه Li و همکاران که در چین صورت گرفت، ۱۱/۳٪ مبتلایان به آزواسپرمی، ریزحذف نواحی با فراوانی‌های AZFc (۷۲/۲٪)، AZFb (۱۳/۱٪)، AZFbc (۶/۱٪)، AZFabc (۴/۵٪) و AZFa (۲/۰٪) داشتند. در حالیکه مبتلایان به آزواسپرمی واجد ریزحذف نواحی AZFc فنوتیپ‌های بیضه‌ای متغیری را نشان دادند، حذف‌های AZFbc و AZFabc منجر به نقص اسپرماتوژن شدید شد (۳۵).

1- Spermatogenic cell test

2- Recurrent Pregnancy Loss

خواهند کرد (۴۴). در حال حاضر جدیدترین توصیه‌ها به انجام تست ریز حذف نواحی از کروموزوم Y آن را قبل از هر مداخله با استفاده از اسپرم حاصل از انزال یا قبل از هر نوع جراحی برای یافتن اسپرم در بیضه مردان آزواسپرم لازم می‌دانند (۴).

باید ذکر شود از جمله ضعف‌های این مطالعه نبود گروه کنترل مناسب همسان‌سازی شده با بیماران می‌باشد. براساس نتایج مطالعات حاضر حذف نواحی از کروموزوم Y در اختلال شدید فاکتور مردانه نسبتاً بالاست؛ اما به نظر می‌رسد حجم نمونه مطالعه حاضر برای نشان دادن ارتباط آن با شدت اختلالات منی یا اختلالات هورمونی کافی نیست و نیاز به مطالعات با حجم نمونه بالا احساس می‌شود.

نتیجه‌گیری

بروز ریزحذف نواحی از کروموزوم Y در ناباروری با عامل شدید مردانه بالاست و به ویژه از این نظر که شانس انتقال این نقص به فرزند در ART (علاوه بر موارد denovo حضور این نقص) وجود دارد، لزوم ارزیابی آن در موارد الیگواسپرمی شدید ($< 5 \text{ million/ml}$) یا آزواسپرمی غیرانسدادی روشن می‌شود. ارتباطی بین میزان بروز حذف AZF و شدت اختلال در تعداد اسپرم وجود دارد، اما این امر نیاز به بررسی بیشتری دارد.

تشکر و قدردانی

در پایان لازم است از تمام مراجعین و خانواده‌هایی که در انجام این مطالعه همکاری داشتند تشکر شود. صمیمانه از زحمات جناب آقای دکتر عباس زادگان و آزمایشگاه پردیس شهر مشهد که امکانات خود را در اختیار همکاران مطالعه قرار دادند تشکر می‌کنیم. ضروری است تاکید شود انجام این مطالعه تنها با مساعی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی مشهد در تامین هزینه‌های طرح امکان‌پذیر شد.

در مطالعه آقای Sakthivel و همکاران عنوان شد که حضور حذف AZF در بیماران مبتلا به واریکوسل اثرات نامطلوبی بر عواقب واریکوسلکتومی خواهد داشت (۲۶). در مطالعه Forrestra ملاحظه شد که ریز حذف نواحی از کروموزوم Y نه تنها باعث عوارض پاتولوژی شدید دو طرفه بیضه‌ها می‌شود؛ بلکه ممکن است با کریپتورکیدیسم یک طرفه نیز مرتبط باشد (۳۶). در یک مطالعه روی ۱۴ مورد دچار سندرم کلاین فلتز، ۴ مورد ریزحذف کروموزوم Y وجود داشت که البته همه این موارد دچار نوعی موزائیسیم بوده و مبتلا به آزواسپرمی بودند و همگی افزایش FSH سرم را نشان می‌دادند (۳۷). برعکس در مطالعه دیگری در سال ۱۹۹۹ در ۲۱ مورد کلاین فلتز هیچ موردی از حذف DAZ و YRRM ملاحظه نشد و لذا نتیجه‌گیری کردند که اختلال اسپرماتوژنز در این بیماران با چنین حذف‌هایی مرتبط نیست (۳۸).

در مطالعات ارتباطی بین افزایش خطر جهش‌ها شامل ریزحذف نواحی از کروموزوم Y با روش‌های کمک باروری مشاهده شد. مثلاً در ۲۰۰۸ (۲۱) ریز حذف نواحی به طور خودبخودی^۱ در کروموزوم Y را در ۳/۵٪ موارد IVF و ۱۶/۷٪ موارد ICSI مشاهده کرده‌اند که در مجموع به طور قابل توجه بیش از بارداری طبیعی است (۳۹).

در اکثر مطالعات انتخاب مردان نابارور به گروه‌های خاص باعث افزایش بروز ریزحذف نواحی می‌شود؛ اما در بعضی مطالعات روی ۹۷ مرد نابارور با انتخاب موارد ایدیوپاتیک هیچ موردی از ریزحذف نواحی از کروموزوم Y مشاهده نشد (۴۰، ۴۱).

در مطالعه‌ای ارتباط ریز حذف نواحی از کروموزوم Y با نقایص مورفولوژیک یا فوق ساختمانی اسپرم نیز مشاهده شده است (۴۲، ۴۳).

در مطالعه دیگری ملاحظه شد که اگر زوج‌های دچار حذف نواحی کوچک از کروموزوم Y را در انتخاب درمان بعد از مشاوره ژنتیک مختار بگذارند اکثر آنها (۷۹٪) ICSI را انتخاب می‌کنند و بقیه (۷٪) AID یا عدم درمان را انتخاب

References

- Wein AJ, Novick AC, Partin AW, Peters CA. Campbell – Walsh urology. 9th ed. Philadelphia: Saunders; 2007. p. 577-653.
- Tu X, Cong X, Yan A, Zeng J, Zhu Z. [Breakpoint localization of Y-chromosome massive deletions in 49 spermatogenesis dysfunction patients]. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*. 2009;26(6):686-9. Chinese.
- Wan L, Cai ZM. [Partial deletions in the AZFc region of the Y chromosome are associated with male infertility]. *Zhonghua Nan Ke Xue*. 2009;15(2):165-9. Chinese.
- Sadeghi-Nejad H, Oates RD. The Y chromosome and male infertility. *Curr Opin Urol*. 2008;18(6):628-32.
- Omrani MD, Samadzade S, Bagheri M, Attar K. Y chromosome microdeletions in idiopathic infertile men from west azarbaijan. *Urol J*. 2006;3(1):38-43.
- Kumtepe Y, Beyazyurek C, Cinar C, Ozbey I, Ozkan S, Cetinkaya K, et al. A genetic survey of 1935 Turkish men with severe male factor infertility. *Reprod Biomed Online*. 2009;18(4):465-74.
- Li HG, Ding XF, Zhao JX, Zuo MD, Xiong CL. [Y chromosome microdeletions of 664 Chinese men with azoospermia or severe oligozoospermia]. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*. 2008;25(3):252-5. Chinese.
- Ristanovic M, Bunjevacki V, Tulic C, Novakovic I, Perovic V, Lukovic LJ, et al. Prevalence of Y chromosome microdeletions in infertile men with severe oligozoospermia in Serbia. *Genet Couns*. 2007;18(3):337-42.
- Mohammed F, Al-Yatama F, Al-Bader M, Tayel SM, Gouda S, Naguib KK. Primary male infertility in Kuwait: a cytogenetic and molecular study of 289 infertile Kuwaiti patients. *Andrologia*. 2007;39(3):87-92.
- Singh K, Raman R. Male infertility: Y-chromosome deletion and testicular etiology in cases of azoo-/oligospermia. *Indian J Exp Biol*. 2005;43(11):1088-92.
- Okutman-Emonts O, Pehlivan S, Tavmergen E, Tavmergen-Goker EN, Ozkinay F. Screening of Y chromosome microdeletion which contains AZF regions in 71 Turkish azoospermic men. *Genet Couns*. 2004;15(2):199-205.
- Aknin-Seifer IE, Lejeune H, Touraine RL, Levy R. Y chromosome microdeletion screening in infertile men in France: a survey of French practice based on 88 IVF centres. *Hum Reprod*. 2004;19(4):788-93.
- Machatková M, Krebsová A, Smetanová I, Matějcková M, Vilímová S, Sobek A, et al. [Chromosome Y microdeletions in Czech men with severe reproductive disorders]. *Cas Lek Cesk*. 2003;142(11):670-5. Slovak.
- Kerr NJ, Zhang J, Sin FY, Benny P, Sin IL. Frequency of microdeletions in the azoospermia factor region of the Y-chromosome of New Zealand men. *N Z Med J*. 2000;113(1121):468-70.
- Lin YM, Chen CW, Sun HS, Hsu CC, Chen JM, Lin SJ, et al. Y-chromosome microdeletion and its effect on reproductive decisions in taiwanese patients presenting with nonobstructive azoospermia. *Urology*. 2000;56(6):1041-6.
- Ng PP, Tang MH, Lau ET, Ng LK, Ng EH, Tam PC, et al. Chromosomal anomalies and Y-microdeletions among Chinese subfertile men in Hong Kong. *Hong Kong Med J*. 2009;15(1):31-8.
- Lu HY, Cui YX, Shi YC, Xia XY, Shao Y, Yang B, et al. [Observation of spermatogenic cells for infertile patients with Y-chromosomal microdeletion]. *Zhonghua Nan Ke Xue*. 2008;14(11):998-1002. Chinese.
- Chiang HS, Yeh SD, Wu CC, Huang BC, Tsai HJ, Fang CL. Clinical and pathological correlation of the microdeletion of Y chromosome for the 30 patients with azoospermia and severe oligoasthenospermia. *Asian J Androl*. 2004;6(4):369-75.
- Hopps CV, Mielnik A, Goldstein M, Palermo GD, Rosenwaks Z, Schlegel PN. Detection of sperm in men with Y chromosome microdeletions of the AZFa, AZFb and AZFc regions. *Hum Reprod*. 2003;18(8):1660-5.
- Luetjens CM, Gromoll J, Engelhardt M, Von Eckardstein S, Bergmann M, Nieschlag E, et al. Manifestation of Y-chromosomal deletions in the human testis: a morphometrical and immunohistochemical evaluation. *Hum Reprod*. 2002;17(9):2258-66.
- Imken L, El Houate B, Chafik A, Nahili H, Boulouiz R, Abidi O, et al. AZF microdeletions and partial deletions of AZFc region on the Y chromosome in Moroccan men. *Asian J Androl*. 2007;9(5):674-8.
- Wan L, Cai ZM. [Partial deletions in the AZFc region of the Y chromosome are associated with male infertility]. *Zhonghua Nan Ke Xue*. 2009;15(2):165-9. Chinese.

23. Liu SY, Ding XP, Wei X, Wei P, Pan HR. [Detection of Y chromosome microdeletions in AZF region by liquid chip technology]. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*. 2008;25(1):86-8. Chinese.
24. Dada R, Kumar R, Shamsi MB, Kumar R, Kucheria K, Sharma RK, et al. Higher frequency of Yq microdeletions in sperm DNA as compared to DNA isolated from blood. *Asian J Androl*. 2007;9(5):720-2.
25. Sakthivel PJ, Swaminathan M. Y chromosome microdeletions in sperm DNA of infertile patients from Tamil Nadu, south India. *Indian J Urol*. 2008;24(4):480-5.
26. Müslümanoğlu MH, Turgut M, Cilingir O, Can C, Ozyürek Y, Artan S. Role of the AZFd locus in spermatogenesis. *Fertil Steril*. 2005;84(2):519-22.
27. Karaer A, Karaer K, Ozaksit G, Ceylaner S, Percin EF. Y chromosome azoospermia factor region microdeletions and recurrent pregnancy loss. *Am J Obstet Gynecol*. 2008;199(6):662.e1-5.
28. Zhu XB, Li Z, Guo AL, Cao XR, Liu Y, Gong DM, et al. [Study on the vertical transmission of Y chromosome microdeletions from father to son]. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*. 2007;24(2):203-5. Chinese.
29. Rodovalho RG, Arruda JT, Moura KK. Tracking microdeletions of the AZF region in a patrilineal line of infertile men. *Genet Mol Res*. 2008;7(3):614-22.
30. Nathanson KL, Kanetsky PA, Hawes R, Vaughn DJ, Letrero R, Tucker K, et al. The Y deletion gr/gr and susceptibility to testicular germ cell tumor. *Am J Hum Genet*. 2005;77(6):1034-43.
31. Patsalis PC, Sismani C, Quintana-Murci L, Taleb-Bekkouche F, Krausz C, McElreavey K. Effects of transmission of Y chromosome AZFc deletions. *Lancet*. 2002;360(9341):1222-4.
32. Moro E, Marin P, Rossi A, Garolla A, Ferlin A. Y chromosome microdeletions in infertile men with varicocele. *Mol Cell Endocrinol*. 2000;161(1-2):67-71.
33. Li HG, Ding XF, Wang C, Zhao JX, Zuo MD, Xiong CL. [Detection of Y chromosome microdeletions in semen of patients with azoospermia: study of 241 cases]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2008;88(24):1662-5. Chinese.
34. Li HG, Ding XF, Zhao JX, Zuo MD, Xiong CL. [Y chromosome microdeletions of 664 Chinese men with azoospermia or severe oligozoospermia]. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*. 2008;25(3):252-5. Chinese.
35. Cayan S, Lee D, Black LD, Reijo Pera RA, Turek PJ. Response to varicocelectomy in oligospermic men with and without defined genetic infertility. *Urology*. 2001;57(3):530-5.
36. Foresta C, Ferlin A, Moro E, Garolla A, Rossato M, Scandellari C. [Microdeletions of the Y chromosome in cryptorchidism and in idiopathic male infertility]. *Ann Ital Med Int*. 1999;14(3):151-8. Italian.
37. Mitra A, Dada R, Kumar R, Gupta NP, Kucheria K, Gupta SK. Y chromosome microdeletions in azoospermic patients with Klinefelter's syndrome. *Asian J Androl*. 2006;8(1):81-8.
38. Geoffroy-Siraudin C, Akinin-Seiffer I, Metzler-Guillemain C, Ghalamoun-Slaimi R, Bonzi MF, Levy R, et al. Meiotic abnormalities in patients bearing complete AZFc deletion of Y chromosome. *Hum Reprod*. 2007;22(6):1567-72.
39. Tateno T, Sasagawa I, Ichiyanagi O, Ashida J, Nakada T, Saito H, et al. Microdeletion of the DAZ (deleted in azoospermia) gene or the YRRM (Y chromosome ribonucleic acid recognition motif) gene does not occur in patients with Klinefelter's syndrome with and without spermatogenesis. *Fertil Steril*. 1999;71(4):746-9.
40. Feng C, Wang LQ, Dong MY, Huang HF. Assisted reproductive technology may increase clinical mutation detection in male offspring. *Fertil Steril*. 2008;90(1):92-6.
41. Tzschach A, Thamm B, Imthurn B, Weber W, Alexander H, Glander HJ, et al. Absence of Yq microdeletions in infertile men. *Arch Androl*. 2001;47(3):167-71.
42. Collodel G, Moretti E, Capitani S, Estenoz M, Manca D, Piomboni P, et al. Ultrastructural sperm study in infertile males with microdeletions of Y chromosome. *J Submicrosc Cytol Pathol*. 2006;38(1):45-50.
43. Hellani A, Al-Hassan S, Al-Duraim A, Coskun S. Y chromosome microdeletions: are they implicated in teratozoospermia? *Hum Reprod*. 2005;20(12):3505-9.
44. Nap AW, Van Golde RJ, Tuerlings JH, De Sutter P, Pieters MH, Giltay JC, et al. Reproductive decisions of men with microdeletions of the Y chromosome: the role of genetic counselling. *Hum Reprod*. 1999;14(8):2166-9.