مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال بیست و نهم/شماره ۱۴۲/هفته دوم مرداد ماه ۱۳۹۰
مقاله پژوهشی
تاریخ دریافت: ۹۰/۱/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۰/۳/۲۹

ارتباط تغییرات ژنتیکی ناحیه‌ی Yq11.223 با ناباروری مردان در جمعیت اصفهان

دکتر مجید متولی باشی[۱]، دکتر زهره حجتی[۱]، زهرا رضایی[۲]، دکتر سیمین همتی[۳]

خلاصه

مقدمه: ناباروری یکی از مشکلات عمده در زندگی افراد نابارور است. یکی از دلایل عمده‌ی ژنتیکی ناباروری وقوع حذف‌ها در کرومزوم Y است که با فراوانی ۱ تا ۱۵ درصدی در افراد مبتلا به آزوسپرمی و الیگواسپرمی شدید گزارش شده است. بر روی کروموزوم Y ۳ ناحیه به نام عوامل آزوسپرمی (Azoospermia factor یا AZF) شناخته می‌شوند. این سه ناحیه با عناوین AZFa، AZFb و AZFc به عنوان ناحیه‌ی اسپرم‌سازی تعیین شده‌اند. در این مطالعه، ارتباط بین تغییرات منطقه‌ی Yq11.223 (DAZ) و ناباروری در مردان بررسی شد.

روش‌ها: در این مطالعه از ۱۰۰ مرد نابارور که به مرکز ناباروری اصفهان مراجعه نموده بودند و همچنین ۱۰۰ فرد سالم به عنوان شاهد، نمونه‌ی خون تهیه شد. DNA ژنومی از گلبول‌های سفید خون استخراج شد. پرایمرها با کمک موتورهای جستجوگر و نرم‌افزار Oligo نسخه‌ی ۶ طراحی گردید. بررسی‌ها در بیماران با استفاده‌ی از تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (Polymerase chain reaction یا PCR) در منطقه‌ی Yq11.223 ناحیه‌ی AZF انجام گرفت.

یافته‌ها: در این مطالعه ۷۰ بیمار آزوسپرم و ۳۰ بیمار الیگواسپرم مورد بررسی قرار گرفتند که در ۷ بیمار آزوسپرم این حذف‌ها مشاهده گردید، در حالی که در افراد الیگواسپرم و ۱۰۰ مرد باروری که به عنوان شاهد استفاده شدند هیچ حذفی مشاهده نشد. همچنین در چندین فرد آزوسپرم تغییر در شدت باندها نیز مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نقش DAZ را در فرایند اسپرم‌سازی مردان را تأیید کرد.

واژگان کلیدی: ناباروری مردان، حذف در آزوسپرمی، فاکتور آزوسپرمی.

مقدمه

ناباروری یکی از مشکلات عمده‌ی زندگی برخی افراد است که در بسیاری از موارد موجب گسیختگی زوج‌ها و مشکلات و عوارض بعدی در زندگی اجتماعی می‌گردد. باروری به توانایی یک زوج در تولید مثل اطلاق می‌شود و ناباروری ناتوانی در باردارشدن پس از یک سال مقاربت بدون استفاده‌ی از روش‌های ضد بارداری گفته می‌شود. میزان ناباروری یک به ازای هر ۶ زوجی که زندگی خود را آغاز کردند تخمین زده می‌شود. بروز ناباروری می‌تواند اولیه یا ثانویه باشد. نازایی اولیه در مورد افرادی به کار می‌رود که هرگز باردار نشده‌اند و نازایی ثانویه برای کسانی به کار می‌رود که سابقه‌ی باروری داشته‌اند (۱).

از آن جایی که در بسیاری از موارد تعیین علت و درمان ناباروری می‌تواند موجب تداوم یک زندگی مشترک و آرامش روحی خانواده‌ها گردد، شناسایی عوامل ژنتیکی باعث مدیریت مناسب زندگی زوج‌های نابارور می‌گردد. ناباروری در مردان دلایل مختلفی دارد که شامل ناهنجاری‌های غدد درون‌ریز (Endocrine)، تغییرات اپی‌ژنتیک (Epigenetic) و وضعیت‌های

[۱] استادیار، بخش ژنتیک، گروه زیست شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
[۲] کارشناسی ارشد ژنتیک مولکولی، بخش ژنتیک، گروه زیست شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.
[۳] استادیار، گروه رادیوتراپی و انکولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر مجید متولی باشی
Email: mbashi@sci.ui.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

ژنتیکی می‌باشد. عوامل ژنتیکی ممکن است در جمعیت بزرگی از زوج‌های نابارور دخیل باشد. در ۱۵ درصد از مردان نابارور و ۱۰ درصد از زنان نابارور، ناهنجاری‌های ژنتیکی دخیل می‌باشند که شامل ناهنجاری کروموزمی و جهش‌های تک ژنی (Monogenic mutation) می‌باشند. زوج‌های سالم جوان در دهه‌ی سوم زندگی ۲۰ تا ۲۵ درصد شانس حاملگی در هر سیکل را دارند. بنابراین میزان متفاوتی از فاکتورها با گستردگی بالایی از کنترل ژنتیکی، ممکن است در این شانس مؤثر باشند (۲).

اسپرم‌سازی فرایند پیچیده‌ای است که طی آن سلول‌های بنیادی اولیه یا همان اسپرماتوگونی تقسیم می‌شوند تا هم خود را نوسازی و تجدید کنند و هم سلول‌های دختری را تشکیل دهند که در آینده به اسپرماتوسیت تبدیل می‌گردد. اسپرماتوسیت‌ها نیز تقسیم می‌شوند و خطوط سلولی بالغی را تشکیل می‌دهند که به اسپرماتیدها تبدیل می‌شوند و اسپرماتیدها نیز سرانجام به اسپرم تبدیل می‌گردند (۳). این تبدیل باعث تراکم هسته‌ای اسپرم، تشکیل آکروزوم، از دست دادن مقدار زیادی از سیتوپلاسم، تشکیل دم و قرار گرفتن میتوکندری‌ها در میانه‌ی اسپرم برای تأمین انرژی لازم برای حرکت اسپرم می‌شود. این مرحله که اسپرمیوژنز (Spermiogenesis) نامیده می‌شود، آخرین مرحله از تشکیل اسپرم کارآمد است که باعث قرارگیری DNA متراکم درون یک کیسه‌ی تنگ و محکم در سر اسپرم می‌شود و امکان نفوذ موفق اسپرم به درون تخمک را فراهم می‌آورد. بنابراین هر گونه نقص در این مرحله می‌تواند مانع لقاح موفقیت‌آمیز شود و در نهایت منجر به ناباروری گردد (۵-۴).

حذف‌ها در کروموزم Y یکی از دلایل عمده‌ی ژنتیکی ناباروری است که با فراوانی ۱۰ تا ۱۵ درصد در افراد مبتلا به آزوسپرمی و الیگواسپرمی شدید گزارش شده است. ۳ ناحیه بر روی این کروموزوم به نام فاکتور آزوسپرمی (Azoospermia factor یا AZF) و با عناوین AZFa، AZFb و AZFc به عنوان نواحی اسپرم‌سازی تعیین شده‌اند. مکانیسم ژنتیکی نقص اسپرم‌سازی در مردان با حذف‌های Yq هنوز ناشناخته است و همچنین مکانیسم‌های مولکولی تغییر یافته در حذف‌های AZF هم به طور کامل ناشناخته می‌باشد. اکثریت حذف‌ها با از دست دادن ژن‌ها درون ناحیه‌ی AZFc و AZFb همراه هستند. حذف‌های AZF به وسیله‌ی نوترکیبی همولوگوس درون کروموزومی بین بلوک‌های توالی‌های تکراری درون ساختارهای پالیندرومی (توالی که به صورت وارونه تکرار شود) ایجاد می‌گردد (۶). در سال ۱۹۷۶ Tiepolo و Zuffardi با استفاده‌ی از کاریوتایپینگ نشان دادند که ۷ مرد آزوسپرمی حذف در ناحیه‌ی بازوی بلند کروموزم Y را داشتند ولی پدران این افراد دارای کل کروموزم Y بودند. این انتظار می‌رود که حذف‌ها سبب آزوسپرمی شود و بر این اساس گفته شد که ژن‌های باروری روی کروموزم Y قرار دارد و غیاب آن‌ها سبب ناباروری می‌گردد که این فرضیه سال‌ها بعد به نام Azoospermia Factor (AZF) نامیده شد (۷). Fitch و همکاران در سال ۱۹۸۵ (۸) و Hartang و همکاران در سال ۱۹۸۸ (۹) حذف‌ها را در ناحیه‌ی بازوی بلند کروموزم Y در مردان آزوسپرمی یافتند و Johnson و همکاران در سال ۱۹۸۹ (۱۰) و Skare و همکاران در سال ۱۹۹۰ (۱۱) حذف‌های کوچک‌تر را در مردان آزوسپرمی نشان دادند.

ژن DAZ (Yq11.223) کاندید اصلی ناحیه‌ی AZFc می‌باشد که یک خانواده‌ی چندین کپی است که

Archive of SID
www.SID.ir

به آن خانواده‌ی ژنی DAZ گفته می‌شود. تعداد دقیق این ژن‌ها مشخص نیست. اگر چه با ساترن بلات مشخص شده است که حداقل ۳ کپی از آن وجود دارد (۱۲). ژن‌های DAZ در طول تکامل پریمات‌ها درون کرومزوم قرار گرفته‌اند و از ژن DAZL که بر روی کرومزوم ۳ انسانی قرار دارد منشأ گرفته‌اند. از بین رفتن همولوگ DAZL در حشرات باعث ناباروری از طریق توقف در مرحله‌ی پاکی تن میوز I و در موش‌ها باعث کاهش تعداد سلول‌های زایشی می‌شود (۱۳). مردانی که فاقد ژن‌های DAZ می‌باشند عقیم بوده (فاقد سلول‌های زایشی)، توقف میوز در پاکیتن I را دارند یا به طور ساده باعث کاهش سلول‌های زایشی می‌شوند (۱۵-۱۴).

روش‌ها

در این مطالعه از ۱۰۰ مرد نابارور که به مرکز ناباروری اصفهان مراجعه نموده بودند و همچنین ۱۰۰ فرد سالم به عنوان شاهد نمونه‌ی خون تهیه شد. همچنین پرسش‌نامه‌هایی جهت جمع‌آوری مشخصات مراجعین تنظیم شد که با رضایت کامل آن‌ها پر گردید. این بیماران از لحاظ سن، روابط فامیلی و سابقه‌ی فامیلی ناباروری، عفونت دستگاه تناسلی، سابقه سقط‌های مکرر، استعمال دخانیات، استفاده از داروهای استروییدی و انواع اعمال جراحی مورد پرسش قرار گرفتند. سپس از آن‌ها خواسته شده تا حداقل ۱ میلی‌لیتر نمونه‌ی منی بعد از ۳ روز پرهیز از روابط جنسی فراهم کنند. میزان اسپرم، تحرک و شکل اسپرم‌ها بررسی شدند. بیماران را بر اساس بررسی منی به ۲ گروه آزوسپرمی شامل ۷۰ بیمار و الیگواسپرمی شامل ۳۰ بیمار (میزان اسپرم کمتر از ۲۰ میلیون در ۱ میلی‌لیتر) تقسیم کردند. DNA ژنوم از گلبول‌های سفید خون استخراج شد. بررسی‌ها در بیماران با استفاده از تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (Polymerase chain reaction یا PCR) در منطقه‌ی Yq11.223 ناحیه‌ی AZF انجام گرفت. مخلوط واکنش به حجم ۲۵ میکرولیتر از ۱ تا ۲ میکرولیتر از DNA ژنومی به عنوان الگو (Template DNA) در مخلوط، ۲/۵ میکرولیتر بافر همانند سازی، ۰/۵ میکرولیتر dNTP، ۱ تا ۲ میکرولیتر از پرایمر و ۰/۳ میکرولیتر از Taq پلیمراز تهیه شد (جدول ۱).

جدول ۱. مواد لازم و مقدار مصرفی این مواد برای انجام واکنش PCR اینترون ۲ ژن DAZ در حجم ۲۵ میکرولیتر

DNA الگو (۱۰۰-۵۰ نانوگرم)	۲ میکرولیتر
بافر ۱۰x PCR	۲/۵ میکرولیتر
$MgCl_2$ (۲ میلی‌مول)	۱ میکرولیتر
F-DAZ (۲۰ پیکومول)	۱ میکرولیتر
R-DAZ (۲۰ پیکومول)	۱ میکرولیتر
dNTP mix (۱۰ میکرومول)	۰/۵ میکرولیتر
Taq (۵ یونیت)	۰/۲ میکرولیتر
dd H_2O	۱۶/۸ میکرولیتر

بعد از ۵ دقیقه مرحله‌ی دناتوراسیون اولیه، واکنش PCR در دمای ۶۱ درجه‌ی ویژه‌ی پرایمر انجام شد (جدول ۲).

جدول ۲. برنامه‌ی دستگاه ترموسایکلر جهت تکثیر اینترون ۲ ژن DAZ محصولات PCR توسط الکتروفورز با ژل آگارز ۱ درصد

دناتوره‌ی اولیه		دناتوره		اتصال		تکثیر		تکثیر نهایی		تعداد سیکل
دما (درجه‌ی سانتی‌گراد)	زمان (دقیقه)	دما (درجه‌ی سانتی‌گراد)	زمان (ثانیه)	دما (درجه‌ی سانتی‌گراد)	زمان (ثانیه)	دما (درجه‌ی سانتی‌گراد)	زمان (ثانیه)	دما (درجه‌ی سانتی‌گراد)	زمان (دقیقه)	
۹۴	۴	۹۴	۳۰	۶۱	۳۰	۷۲	۳۰	۷۲	۱۰	۳۵

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۳. توالی پرایمرهای طراحی شده برای اینترون ۲ ژن DAZ

DAZ-F	5′ GTGTTACCAGAAGGCAAAATCGTG
DAZ-R	5′ CACTTCTTTCACTGAACCGTATCTACC

محصولات PCR بر روی ژل اگارز ۱ تا ۲ درصد قرار گرفتند و با اتیدیوم برماید رنگ آمیزی شدند. در نمونه‌هایی که نقص در تکثیر دیده شد، ۲ واکنش PCR اضافی برای تأیید حذف‌ها انجام گرفت.

پرایمرها به کمک نرم‌افزار Oligo نسخه ی ۶ طراحی گردید. به این منظور نخست از طریق بانک‌های اطلاعاتی Ensembl و مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی (National Center for Biotechnology Information یا NCBI) توالی موجود در ۴ کپی ژن DAZ به دست آمد. توالی هدف به نرم‌افزار الیگو وارد شد، از میان پرایمرهای ارائه شده توسط نرم‌افزار یک جفت که قابلیت بهتری نسبت به سایرین داشت انتخاب گردید (جدول ۳).

در انتخاب بهترین پرایمر عوامل متعددی از جمله، طول قطعات، عدم تشکیل دایمر پرایمر در انتهای ′۳ با خود یا با پرایمر جفت، عدم تفاوت T_m پرایمر بالادست با پرایمر پایین دست، ΔG مناسب و همچنین نسبت بازهای گوانین و سیتوزین به بازهای آدنین و تیمین، لحاظ شد. علاوه بر این، پرایمرهای انتخاب شده در پایگاه اطلاعاتی NCBI جهت اطمینان از عدم هیبریداسیون با نقطه‌ی دیگری از ژنوم انسان بررسی گردید. با توجه به بررسی های بیوانفورماتیکی انجام شده و تشابه بالای ۴ کپی ژن DAZ، این پرایمر طوری طراحی شد که به ۴ کپی از ژن DAZ متصل گردد (جدول ۴). در ادامه‌ی کار به منظور اطمینان از صحت پرایمرهای طراحی شده این پرایمرها توسط نرم‌افزار CLC مورد بررسی قرار گرفتند.

جدول ۴. توالی قطعه‌ی تکثیر یافته توسط پرایمرهای طراحی شده

	GTGTTACCAG	AAGGCAAAAT	CGTGCCAAAC	ACTGTTTTTG	TTGGTGGAAT
۵۱	TGATGCTAGG	GTATTGTATT	CGTACCTCAT	TTTTACCTTA	ACATACATCA
۱۰۱	TGAACAATGG	GATGTGGGCC	CTGTTACAAA	CTTAAATTTT	TTTTTGTACT
۱۵۱	TCCTGGAGGT	TTAGAATTGC	TTTTAGGTTT	GACCCATAGG	TACTAAAAAT
۲۰۱	ATCTTTGACA	AAGGGCTGCT	GGTCATTCGG	GGATAAATGG	GGGAGAAATT
۲۵۱	TCCACCTCAT	GGTAGTAAAA	TTGTAGTAAA	GTTGAAATTT	TTGAATGCTG
۳۰۱	AATTTTTACT	CTGACGTTCA	GTTCTTTTCC	ATAGATGGAT	GAAACTGAGA
۳۵۱	TTGGAAGCTG	CTTTGGTAGA	TACGGTTCAG	TGAAAGAAGT	G

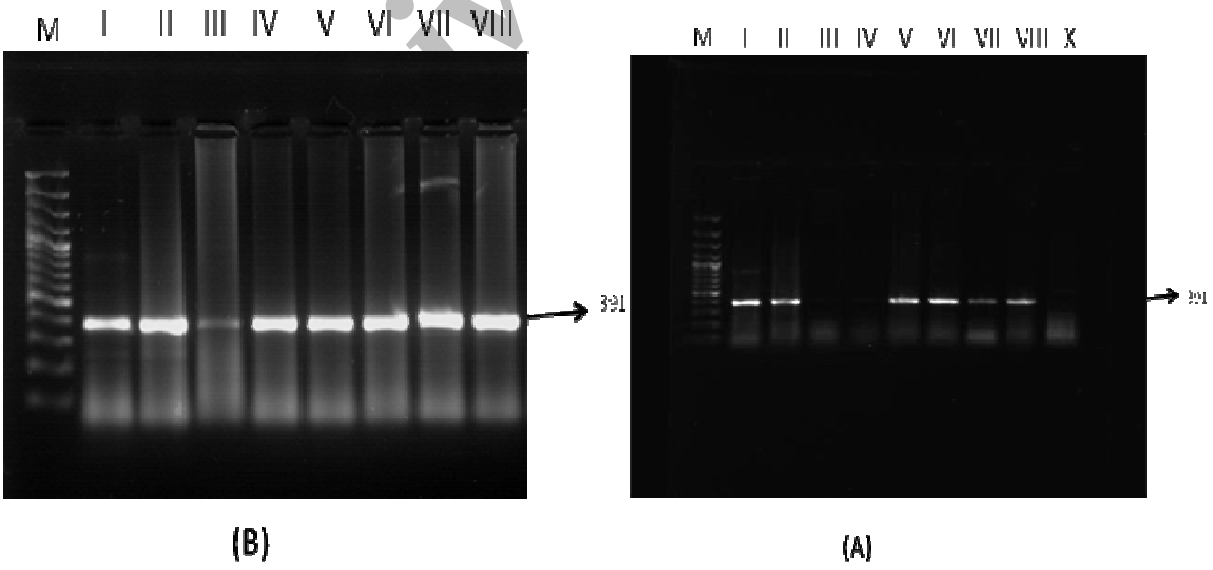
Archive of SID
www.SID.ir

یافته‌ها

در این مطالعه ۷۰ بیمار آزوسپرم و ۳۰ بیمار الیگواسپرم مورد بررسی قرار گرفت که در ۷ بیمار آزوسپرم حذف‌ها مشاهده گردید. در حالی که در افراد الیگواسپرم و ۱۰۰ مرد بارور که به عنوان شاهد استفاده شدند هیچ حذفی مشاهده نشد. میانگین سنی بیماران مورد مطالعه ۳۰ سال بود و بیماران در محدوده‌ی سنی ۲۵ تا ۶۱ سال قرار داشتند. در این تحقیق DNA خون ۱۰۰ مرد نابارور و ۱۰۰ فرد شاهد استخراج گردید. خلوص و مقدار DNA به دو روش ژل آگارز ۱ درصد و اسپکتروفتومتری مورد بررسی قرار گرفت. با روش اسپکتروفتومتری غلظت DNA به طور متوسط بین ۱۵۰ تا ۲۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر محاسبه گردید.

تکثیر اینترون ۲ ژن DAZ با استفاده‌ی از آنزیم Taq پلی‌مراز، پرایمرهای اختصاصی و نمونه‌ی DNA استخراج شده صورت گرفت. طول قطعه‌ی حاصل ۳۹۱ جفت باز (bp) بود. در ابتدا با تکثیر قسمتی از ژن DAZ در ۴ کپی آن، چندین تغییر ژنتیکی مشاهده شد.

یکی از تعییرات ژنتیکی مشاهده شده حذف‌ها در این ناحیه بود.دیگر تغییر مشاهده شده تغییر شدت باندها (با در نظر گرفتن شرایط یکسان) بود. از مردان بارور به عنوان شاهد مثبت و از زنان به عنوان شاهد منفی استفاده شد. همچنین در چندین فرد آزوسپرم تغییر در شدت باندها نیز مشاهده شد که در مردان الیگواسپرم و شاهد این تغییر شدت باندها مشاهده نگردید (شکل ۱).



شکل ۱. چاهک I، مرد بارور(کنترل مثبت) چاهک‌های II، V، VI، VII و VIII مردان نابارور آزوسپرم و الیگواسپرم، فاقد حذف در ناحیه‌ی DAZ. چاهک X ژن (کنترل منفی) و چاهک‌های III و IV مردان نابارور آزوسپرم که دارای حذف در ناحیه DAZ هستند(A). در چاهک III شدت باند بسیار کمتر از شدت باند در چاهک‌های II، IV، V، VI، VII و VIII است (B).

www.SID.ir

بحث

اسپرم‌سازی به وسیله‌ی تعدادی از ژن‌ها روی کروموزم Y و کروموزم‌های آتوزوم تنظیم می‌شود. حذف‌های کروموزم Y یک دلیل رایج از ناباروری مردان است. فراوانی حذف‌های کروموزم Y با شدت نقص اسپرم‌سازی افزایش پیدا می‌کند. تقریباً ۱۵ درصد مردان آزوسپرم و ۵ تا ۱۰ درصد از مردان الیگواسپرم حذف‌های کرومزوم Y را نشان می‌دهند. با این وجود حذف‌های کروموزم Y با آنالیز منی مشخص نمی‌شود. بنابراین برای بررسی حذف‌های کروموزمY، PCR مورد نیاز می‌باشد. مطالعات اخیر نشان دادند تنوع قابل ملاحظه‌ای در فراوانی حذف‌ها وجود دارد. حذف‌های AZF با مرحله‌ای که اسپرم‌سازی متوقف می‌شود ارتباط دارد. هر ناحیه‌ی AZF در مراحل مختلفی از اسپرم‌سازی عمل می‌کند و حذف در هرناحیه باعث توقف اسپرم‌سازی در مراحل ویژه‌ای می‌گردد (۱۶). حذف AZFa با غیاب کامل سلول‌های زایشی و با سندرم SCO همراه می‌شود. حذف AZFb موجب توقف رشد سلول‌های زایشی در مرحله‌ی پاکیتن و توقف میوز می‌گردد. حذف‌های AZFc با کاهش اسپرم‌سازی یا توقف بلوغ اسپرم و کاهش اسپرم، همراه می‌شود. بنابراین حذف ناحیه‌ی AZF باعث فنوتیپ‌های ویژه‌ای می‌گردد و ژن‌ها در هر ناحیه در مرحله‌ی ویژه‌ای از تمایز سلول‌های زایشی عمل می‌کنند (۱۷). فراوانی حذف‌ها در مطالعات مختلف بین ۳ تا ۱۸ درصد در افراد آزوسپرم و الیگواسپرم گزارش شده است. تنوع در فراوانی حذف‌ها به علت موقعیت جغرافیایی و جمعیت مورد مطالعه.می‌باشد (۱۸). در جمعیت ایتالیا حدود ۵۵ درصد از مردان نابارور، حذف کروموزم Y را نشان دادند (۱۹).

کاهش در تعداد کپی‌ها در ژن DAZ گزارش شده است که در برخی جمعیت‌ها در رابطه با ناباروری می‌باشد (۲۰). حذف‌های مشاهده شده در این ناحیه بیانگر حذف همه‌ی کپی‌های ژن DAZ در افراد نابارور می‌باشد. در ۷ نفر از ۱۰۰ نمونه‌ی مورد مطالعه (۷ درصد) حذف در این منطقه دیده شد. تغییر شدت باندها (با در نظر گرفتن شرایط یکسان) نشان دهنده‌ی حذف برخی از کپی‌های ژن DAZ در افراد نابارور می‌باشد. با مشاهده‌ی این نتایج بایستی حذف‌های کوچک و تکه‌ای در ناحیه‌ی AZFc بررسی گردد. استفاده‌ی از روش تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم (Intra cytoplasmic sperm injection یا ICSI) در مردان نابارور دارای مشکلاتی می‌باشد. زیرا حذف‌های کروموزم Y ممکن است از پدر به پسر منتقل شود در نتیجه پسران نیز نابارور می‌گردند. بنابراین مردان نابارور قبل از استفاده‌ی از روش ICSI باید از لحاظ حذف‌های کروموزم Y مورد بررسی قرار گیرند.

تشکر و قدردانی

از معاونت‌های پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه اصفهان، دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به خاطر فراهم کردن تجهیزات و از همکاری‌های مرکز ناباروری و سازمان انتقال خون اصفهان و بیمارستان سیدالشهدا (ع) برای جمع‌آوری نمونه‌ها صمیمانه تشکر می‌شود.

Archive of SID
www.SID.ir

References

1. Speroff L, Class RH, Kase NC. Clinical Genyocolog Endocrinology and Infertility; 1013-1014. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Willams&Wiklins; 1999. p. 1013-4.
2. Yeom HJ, Her YS, Oh MJ, Paul S, Park MS, Yeoun JP, et al. Application of multiplex bead array assay for Yq microdeletion analysis in infertile males. Mol Cell Probes 2008; 22(2): 76-82.
3. Burgoyne PS, Baker TG. Meiotic pairing and gametogenic failure. Symp Soc Exp Biol 1984; 38: 349-62.
4. Vicdan A, Vicdan K, Gunalp S, Kence A, Akarsu C, Isik AZ, et al. Genetic aspects of human male infertility: the frequency of chromosomal abnormalities and Y chromosome microdeletions in severe male factor infertility. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2004; 117(1): 49-54.
5. Spiridonov NA, Wong L, Zerfas PM, Starost MF, Pack SD, Paweletz CP, et al. Identification and characterization of SSTK, a serine/threonine protein kinase essential for male fertility. Mol Cell Biol 2005; 25(10): 4250-61.
6. Meschede D, Horst J. The molecular genetics of male infertility. Mol Hum Reprod 1997; 3(5): 419-30.
7. Tiepolo L, Zuffardi O. Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm. Hum Genet 1976; 34(2): 119-24.
8. Fitch N, Richer CL, Pinsky L, Kahn A. Deletion of the long arm of the Y chromosome and review of Y chromosome abnormalities. Am J Med Genet 1985; 20(1): 31-42.
9. Hartung M, Devictor M, Codaccioni JL, Stahl A. Yq deletion and failure of spermatogenesis. Ann Genet 1988; 31(1): 21-6.
10. Johnson MD, Tho SP, Behzadian A, McDonough PG. Molecular scanning of Yq11 (interval 6) in men with Sertoli-cell-only syndrome. Am J Obstet Gynecol 1989; 161(6 Pt 1): 1732-7.
11. Skare J, Drwinga H, Wyandt H, vanderSpek J, Troxler R, Milunsky A. Interstitial deletion involving most of Yq. Am J Med Genet 1990; 36(4): 394-7.
12. Ferlin A, Moro E, Onisto M, Toscano E, Bettella A, Foresta C. Absence of testicular DAZ gene expression in idiopathic severe testiculopathies. Hum Reprod 1999; 14(9): 2286-92.
13. Becherini L, Guarducci E, Degl'Innocenti S, Rotondi M, Forti G, Krausz C. DAZL polymorphisms and susceptibility to spermatogenic failure: an example of remarkable ethnic differences. Int J Androl 2004; 27(6): 375-81.
14. Habermann B, Mi HF, Edelmann A, Bohring C, Backert IT, Kiesewetter F, et al. DAZ (Deleted in AZoospermia) genes encode proteins located in human late spermatids and in sperm tails. Hum Reprod 1998; 13(2): 363-9.
15. Fox MS, Reijo Pera RA. Male infertility, genetic analysis of the DAZ genes on the human Y chromosome and genetic analysis of DNA repair. Mol Cell Endocrinol 2001; 184(1-2): 41-9.
16. Viswambharan N, Suganthi R, Simon AM, Manonayaki S. Male infertility: polymerase chain reaction-based deletion mapping of genes on the human chromosome. Singapore Med J 2007; 48(12): 1140-2.
17. Ristanovic M, Bunjevacki V, Tulic C, Novakovic I, Nikolic A. Molecular analysis of Y chromosome microdeletions in idiopathic cases of male infertility in Serbia. Genetika 2007; 43(6): 850-4.
18. Simoni M, Kamischke A, Nieschlag E. Current status of the molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions in the work-up of male infertility. Initiative for international quality control. Hum Reprod 1998; 13(7): 1764-8.
19. Foresta C, Ferlin A, Garolla A, Rossato M, Barbaux S, De Bortoli A. Y-chromosome deletions in idiopathic severe testiculopathies. J Clin Endocrinol Metab 1997; 82(4): 1075-80.
20. de Vries JW, Hoffer MJ, Repping S, Hoovers JM, Leschot NJ, van d, V. Reduced copy number of DAZ genes in subfertile and infertile men. Fertil Steril 2002; 77(1): 68-75.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Isfahan Medical School Original Article

Vol 29, No 142, 2nd week, August 2011 Received: 5.4.2011 Accepted: 19.6.2011

Investigation of Association between Genetic Diversities in Yq11.223 Region with Men Infertility in Isfahan Population

Majid Motovali-Bashi PhD[1], Zohreh Hojati PhD[1], Zahra Rezaei MSc[2], Simin Hemmati MD[3]

Abstract

Background: Infertility is one of the important human problems. One of the main genetic factors of infertility is the deletions in the chromosome Y, which is reported in 10-15% of men with severe azoospermia and oligospermia. Three regions in azoospermia factor *(AZFa), (AZFb)* and *(AZFc*) are specified as the spermatogenetic regions. In this study we investigated the effect of changes in Yq11.223 (*DAZ*) region in chromosome Y on infertility.

Methods: In this study the blood samples of 100 infertile men who referred to the Infertility Center of Isfahan and 100 healthy people, as the control group were taken. The genomic DNA was extracted from blood samples. The analyses were performed by applying the polymerase chain reaction (PCR) technique in *AZF* region of Yq11.223.

Findings: In this study 70 azoospermia and 30 oligospermia patients were investigated. The deletions in *AZF* region of Yq11.223 were recognized in 7 azoospermia patients but there were not detected in oligospermia patients and the control group. It was also observed that the intensity of bands were changed comparing between azoospermia patients.

Conclusion: Deletion frequency in the region of Yq11.223 was observed in 7 of 100 (7%) infertile Oligospermia and Azoospermia men. Our results confirm the effect of *DAZ* in the man's infertility.

Keywords: Men infertility, Deletion in azoospermia, Azoospermia factor.

Archive of SID

[1] Assistant Professor, Division of Genetics, Department of Biology, School of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran.
[2] Division of Genetics, Department of Biology, School of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran.
[3] Assistant Professor, Department of Oncology and Radiotherapy, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
Corresponding Author: Majid Motovali-Bashi PhD, Email: mbashi@sci.ui.ac.ir

www.SID.ir