Archive of SID

ژنتیک نوین
دوره سوم،شماره۱،بهار ۱۳۸۷
صفحه ۷۸-۶۹

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

رضا میرفخرایی(MSc)[۱و۲*]، فرزانه میرزاجانی(PhD)[۲]، ناصر سلسبیلی(PhD)[۳]، مریم منتظری(MSc)[۲]، حسین فضلی(BSc)[٤]، مسعود هوشمند(PhD)[۲]، سید مهدی کلانتر(PhD)[٤]

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

٤-مرکز تحقیقاتی و درمانی ناباروری یزد، یزد، ایران

*نویسنده مسوول مکاتبات، پست الکترونیک:reza_mirfakhraie@yahoo.com

rmirfakhraie@nigeb.ac.ir

چکیده

عوامل ژنتیکی حدودا ۱۰ درصد علت های ناباروری را شامل می شوند.در این بین ژنهایی که در نواحی AZF (شامل AZFa، AZFbو 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 آزواسپرم و الیگواسپرم تعیین گردد. در مجموع تعداد ۱۲۰ مرد ایرانی مبتلا به ناباروری مردان(شامل ۱۰٦ بیمار آزواسپرم و ۱٤ بیمار الیگواسپرم) 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 ٦ 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(۱/٦۷٪)، AZFb در ۱۱ (۹/۱۷٪) و حذف AZFc در ٦ (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 آسیب‌های 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 می‌باشد(۱). در حدود ۱۵ درصد زوج ها به دلائل

www.SID.ir

Archive of SID

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

آزواسپرمی[۱] (عدم اسپرماتوزوآ در انزال)،الیگوزواسپرمی[۲](کاهش اسپرم به میزانی کمتر از ۲۰×۱۰[۶] 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 می‌باشند)، الیگوآستنوتراتوزواسپرمی[۵] (مجموعه سه حالت اخیر) و آاسپرمی[۶] (فقدان انزال).تاکنون در زمینه ناباروری در مردان عوامل متعددی ذکر گردیده که عبارتنداز 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 اسپرماتوژنز در بازوی بلند (Yq11) واقع شده اند و عمدتا عبارتند از RBM1، RBM2، BPY2،DAZ ، CDY،DFFRY، TSPY و USP9Y. ریزحذف‌های کرموزوم Y شایع‌ترین 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 کرموزوم y گردیده است که جهت اسپرماتوژنز ضروری می‌باشند و عبارتند از AZFa[۷]، AZFb و AZFc که در بازوی بلند کرموزوم 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 می‌توانند باعث نقائص اسپرماتوژنیک شدید از آزواسپرمی غیر انسدادی (۱۵- ۱۰درصد) تا الیگواسپرمی (۱۰-۵ درصد) شوند. علت این حذف ها نوترکیبی بین نوارهای بلند توالی‌های DNA بسیار تکراری در طی میوز است. فرکانس حذف در سه ناحیه اول متفاوت می‌باشد به گونه‌ای که میزان حذف در نواحی a, bc, b, c و abc به ترتیب ۷۹، ۹، ۶، ۳ و۳ درصد گزارش شده است(۴).

از نقطه نظر ارتباط میان ژنوتیپ و فنوتیپ حذف‌های ناحیه AZFa باعث آزواسپرمی و سندروم SCO[۸] می‌شوند(۵). مهمترین ژن‌هائی که در این ناحیه قرار دارند عبارتند از DBY وUSP9Y . حذف کامل AZFb و AZF b+c با تصویر هیستولوژیک سندروم SCO یا توقف اسپرماتوژنز همراه است که منجر به آزواسپرمی می‌شود(۱و۶). حذف ناحیه AZFc با فنوتیپهای کلینیکی و هیستولوژیکی متغیر (از هیپواسپرماتوژنز[۹] یا الیگوزواسپرمی تا سندروم SCO یا آزواسپرمی) همراه است. در کل حذف‌های ناحیه AZFc با اسپرماتوژنز ناقص هم خوانی دارد(۷). حذف های ناحیه AZFc در مردان مبتلا به آزواسپرمی و الیگوزواسپرمی 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

1-Azoospermia
2-Oligozoospermia
3-Asthenozoospermia
4- Teratozoospermia
5-Oligoastenoteratozoospermia
6-Aspermia
7-Azoospermia Factor
8-Sertoli Cell Only Syndrome
9-Hypo spermatogenesis
10-Intracytoplasmic Spermatozoa Injection

www.SID.ir

Archive of SID

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 لنفوسیت 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 مارکرSTS [11] 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 واکنش۵۰µl PCR عبارت بودند از: ۱۰۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۱/۵ تا ۲pmol/l MgCl2، ۱۰mmol/l از dNTPs ، ۵ pmol/l از هر پرایمر، ۱ µl از۵ PCR Buffer (10X) و ۲u آنزیم Taq پلیمراز.

برنامه PCR شامل مرحله واسرشتی اولیه در $^{\circ}C$ ۹۴ به مدت ۵ دقیقه، ۳۲ سیکل شامل $^{\circ}C$ ۹۴ به مدت ۳۰ ثانیه، $^{\circ}C$ ۵۷ به مدت ۱ دقیقه، $^{\circ}C$ ۷۲ به مدت ۱ دقیقه و در نهایت ۱ مرحله طویل سازی نهایی در $^{\circ}C$۷۲ 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 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

تقریبا در ۶۰ درصد موارد علت ناباروری مردان ناهنجاری های کروموزومی و ریزحذف های کروموزوم Y است که منجر به نقص در اسپرماتوژنز می‌شود(۱۱و۱۲). وقوع ناهنجاری های کروموزومی در جمعیت عمومی مردان بین ۰/۷ تا ۱ درصد گزارش شده است(۱۱و۱۲). وقتی این رقم با میزان وقوع آن در مردان نابارور مقایسه شود مشخص می‌گردد که این آمار در نابارووران ۱۰ تا ۲۰ درصد بالاتر است. از میان ناهنجاری های کروموزومی، ناهنجاری های کروموزوم های جنسی بیشتر در گروه آزواسپرم 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 میان۱۲/۲۶ درصد(۱۳ نفر از ۱۰۶ بیمار) آزواسپرم و۱۴/۲۸ 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 آزواسپرم است. در تحقیقات مختلف انجام شده فرکانس وقوع ریزحذف ها در افراد آزواسپرم 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 denovoمی‌باشد و منشاء این حذف ها به خوبی شناخته نشده است. ریزحذف‌ها ممکن

11- Sequence-tagged sites

www.SID.ir

Archive of SID

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(۱۷و۱۸). وقوع نسبتا بالای ریزحذف‌های Y نشان می‌دهد 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 می‌تواند منجر به آزو و الیگواسپرمی گردد.

خانواده های ژنی DAZ در ناحیه AZFc قرار دارد و بنا بر گزارشات شایع‌ترین ژن حذف شده مرتبط با ناباروری می باشد. این خانواده ژنی ۴ نسخه دارد. ژنهای DAZ پروتئین هایی را در بافت بیضه رمز می‌کنند که دارای موتیف[12] اتصال به RNA است و در متابولیسم RNA نقش تنظیمی دارد(۲۸). به دلیل شباهت زیاد میان توالی این ژن با ژنهای *dazlz* 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(۲۸و۲۹). 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 طبیعی ضروری باشند ولی در هر حال اینکه آیا حذف آنها در مردان دارای حذف AZFb باعث ناباروری شود، مشخص نیست(۲۸و۲۹).

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, b, c و abc در میان بیماران دارای حذف را به ترتیب ۷۹، ۹، ۶، ۳ و۳ 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 ۵۳/۳، ۲۶/۶۷، ۶/۶۷ ، ۶/۶۷ و۶/۶۷ درصد خواهد بود. به عبارت دیگر یافته‌های 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 هیچ‌یک 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 پیشگوئی نتایج حاصل از استفاده از روش هایی نظیر TESE/ICSI کمک نماید. تصویر۱ رابطه میان فنوتیپ و

12- Motif

www.SID.ir

Archive of SID

ژنوتیپ را در مورد ریزحذف های کروموزوم Y نشان می دهد. همانگونه که در تصویر مشاهده می‌شود حذف کامل AZFa ، AZFb، AZFbc و AZFabc با سندروم SCO همراه است. حذف کامل ناحیه AZFb باعث توقف اسپرماتوژنز و عدم بلوغ اسپرم می گردد در حالیکه حذف ناحیه AZFc با فنوتیپ متغییری از الیگواسپرمی شدید تا آزواسپرمی همراه است و حذف های جزئی در ناحیه اخیر هم میتواند باعث آزواسپرمی شود و هم می‌تواند 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 و۳۰). 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 می‌توانند به فرزندان ذکور انتقال پیدا کنند. بررسی حاضر در این زمینه نتایج متناقضی داشته است چرا که دو نفر از بیماران (Inf50 وInf53) تنها حذف یکی از دو مارکر منطقه AZFb یعنی sY127 را نشان می‌دهند 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 آزواسپرمی 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 حذف‌های کرموزوم Y در ناباروری مردان انجام گرفته است، می‌توان 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 پیشگوئی 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 می‌باشند نمونه ای از این موارد است که می توان با ذخیره و انجماد اسپرماتوزوآ[13] از انجام روش‌های 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 اسپرماتوژنز تاثیری 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 می‌گردد.

13-Cryopreservation

www.SID.ir

Archive of SID

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

STS	ناحیه	اندازه (bp)	توالی پرایمر
sY84	*AZFa*	۳۲۶	AGA AGG GTC TGA AAG CAG GT GCC TAC TAC CTG GAG GCT TC
sY86	*AZFa*	۳۲۰	GTG ACA CAC AGA CTA TGC TTC ACA CAC AGA GGG ACA ACC CT
sY127	*AZFb*	۲۷٤	GGC TCA CAA ACG AAA AGA AA CTG CAG GCA GTA ATA AGG GA
sY134	*AZFb*	۳۰۱	GTC TGC CTC ACC ATA AAA CG ACC ACT GCC AAA ACT TTC AA
sY254	*AZFc*	٤۰۰	GGG TGT TAC CAG AAG GCA AA GAA CCG TAT CTA CCA AAG CAG C
sY255	*AZFc*	۱۲٦	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	الیگواسپرمی	۳۷	۲۰	-	AZFb	sY127	-	
Inf53	۳۸	الیگواسپرمی	۱۲	۱۰	-	AZFb	sY127	-	

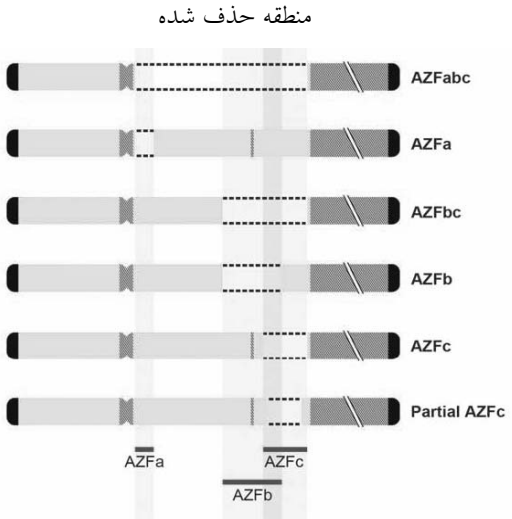
MA: Maturation Arrest
SCO: Sertoli Cell Only
TESE: Testicular Sperm Extraction

www.SID.ir

Archive of SID

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

تعداد بیماران	تعداد بیماران دارای ریزحذف (٪)	مرجع	کشور
٦٣	(١٥/٨)١٠	١٩	ژاپن
٩٩	(٢٤/٢)٢٤	٢٠	ایران
٥١	(٧/٨) ٤	٢١	انگلستان
٤٠	(٥)٢	٢٢	ایران
١٩	(٢١)٤	٢٣	ایتالیا
١٦٣	(١٦) ٢٦	٢٤	تونس
٧٨	(٢/٥)٢	٢٥	ایرلند
٥٨	(١/٧) ١	٢٦	اسپانیا
٥٠	(١٠) ٥	٢٧	ترکیه
١٢٠	(١٢/٥)١٥	تحقیق حاضر	ایران



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

www.SID.ir

Archive of SID

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 microdelations. 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 azoospermic 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, Tschanter 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, Brusnicky 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 Kiyo 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 spermato- genesis: 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, Kamiscke 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, Matsoshita I, (1994) PCR analysis of the Y-chromosome long arm in azoospermic patients: evidence for a second locus required for spermatogenesis.
Hum Mol Genet 3:1965–7.
20. Omrani MD, Samadzadae 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, Tabarroki 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

www.SID.ir

Archive of SID

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, Martınez-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.

www.SID.ir