مقاله اصیل پژوهشی

بررسی مولکولی حذف‌های کروموزوم Y در نواحی AZF بیماران مبتلا به آزواسپرمی و اولیگواسپرمی غیر انسدادی مراجعه‌کننده به مرکز ناباروری منتصریه مشهد

معصومه وکیلی ازغندی[۱]، محمدرضا نصیری[۲]، علی شمسا[۳]، محسن جلالی[۴]، محمد مهدی شریعتی[۵]

چکیده

زمینه و هدف: نواحی حاوی فاکتورهای آزوسپرمی (AZF) واقع در بازوی بلند کروموزوم Y، دارای ژن‌هایی است که نقش و عملکرد خاص آنها در اسپرماتوژنز و باروری به‌طور کامل مشخص نشده است؛ از این رو، شناخت ارتباط بین ریزحذف‌های نواحی AZF با باروری مردان؛ تشخیص، درمان و مشاوره ژنتیک را مقدور می‌سازد. هدف از انجام این مطالعه، بررسی ریزحذف‌های کروموزوم Y در بیماران مبتلا به ناباروری اولیگواسپرمی و آزواسپرمی غیرانسدادی و شناسایی STS (ناحیه توالی اتصالی) نشانگرهای مناسب مرتبط با آنان بود.

روش تحقیق: این مطالعه، بر روی ۴۵مرد نابارور مبتلا به آزواسپرمی و الیگواسپرمی با دلایل غیر انسدادی و دارای کاریوتایپ نرمال که به مرکز ناباروری منتصریه مشهد مراجعه کرده بودند، انجام شد. غربالگری مولکولی با استفاده از تکنیک Multiplex PCR و پرایمرهای STS، طبق راهنمای EAA/EMQN (آکادمی اندرولوژی/ شبکه کیفیت ژنتیک مولکولی اروپا) برای شناسایی ریزحذف‌ها در نواحی سه‌گانهAZF کروموزوم Y انجام شد.

یافته‌ها: از بین ۴۵مرد نابارور، ۳بیمار دارای ریزحذف‌های کروموزوم Y در ناحیه AZFa بودند. از این ۳نفر، ۲بیمار (۷/۷درصد) در ناحیه AZFc و یک بیمار (۵/۷ درصد) در ناحیه AZFa دارای ریزحذف بودند. نتایج نشان داد، ریزحذف‌های نواحیAZF نقش زیادی بر بروز آزواسپرمی و الیگواسپرمی در مردان نابارور دارد.

نتیجه‌گیری: بررسی ریزحذف های کروموزومY به‌عنوان یک آزمایش مولکولی با اهمیت برای کسب اطلاعات ژنتیکی قابل اعتماد در مردان مبتلا به ناباروری، قبل از استفاده از تکنیک‌های کمک باروری توصیه می‌شود؛ این امر به کاهش هزینه‌ها و اثربخشی درمان کمک خواهد نمود.

واژه‌های کلیدی: آزواسپرمی؛ اولیگواسپرمی؛ ریزحذف؛ ناباروری؛ AZF

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۹۴؛ دوره ۲۲ (۲): ۱۵۴-۱۶۰.

دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۲۵ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۲/۰۹

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح نژاد دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

[۲] نویسنده مسؤول؛ استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران؛

آدرس: مشهد -میدان آزادی- دانشگاه فردوسی مشهد- دانشکده کشاورزی- گروه علوم دامی

تلفن: ۰۵۱۳۸۸۰۳۰۰۰ نمابر: ۰۵۱۳۸۸۰۳۰۰۰ پست الکترونیکی:nassiryr@um.ac.ir

[۳] استاد، گروه اورولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی مشهد، مشهد، ایران.

[۴] استادیار، گروه اورولوژی، دانشکده پزشکی، مرکز ناباروری منتصریه، مشهد، ایران.

[۵] استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

مقدمه

ناباروری اغلب به‌شرایطی گفته می‌شود که یک زوج پس از یک سال رابطه جنسی بدون جلوگیری، قادر به باردارشدن نیستند. سازمان جهانی بهداشت (WHO) ناباروری را به‌عنوان یک مشکل پزشکی جهانی معرفی کرده است. علامت اصلی ناباروری، عدم توانایی باردارکردن همسر بعد از تلاش‌های پی در پی است. ناباروری و نازایی، مشکل تقریباً ۱۵درصد زوج‌ها است که در ۵۰درصد موارد، نازایی به‌دلیل اختلالات در مردان می‌باشد (۱). تلاش به‌منظور بررسی علل آزواسپرمی نشان داده است که صرف‌نظر از علل تشخیص سنتی (کاریوتایپ غیر طبیعی، انسداد، واریکوسل، نقص‌های هورمونی و غیره)، اغلب موارد (۵۰ تا ۷۵ درصد) غیر قابل توضیح هستند و با علت ناشناخته[1] در نظر گرفته می‌شوند. در اوایل سال ۱۹۶۷، محققین به وجود یک عامل ضروری برای انجام اسپرماتوژنز به نام عامل آزواسپرمی (AZF)مشکوک شدند و فرضیه ارتباط بین حذف‌های کوچک کروموزوم Y و ناباروری در مردان، اولین‌بار در همان سال توسط Tiepolo و Zuffardi طرح شد (۲). آنها به این نتیجه رسیدند که برخی از افراد دارای حذف‌های کوچک در کروموزوم Y خود، پدرانی با کروموزوم Y نرمال دارند؛ بنابراین حذف‌ها به‌طور عمده به‌علّت رخدادهای نوظهور صورت می‌پذیرد. آنها مشاهده کردند که در این ناحیه، سه زیرناحیه است که به‌طور معمول حذف می‌شود و این سه زیرناحیه در قسمت سر و قسمت میانی و انتهایی Yq11 واقع شده‌اند. آنالیزهای مولکولی نشان داده است که این سه زیرناحیه، نه همه‌ی ژن‌ها بلکه غالب ژن‌های مسئول در اسپرماتوژنز را در بردارند. این سه زیرناحیه به نام‌های AZFa، AZFb و AZFc شناخته می‌شوند (۳). مهم‌ترین ژن‌های نواحی سه‌گانه AZF که در اسپرماتوژنسیز دخیل هستند و حذف در آنها، مسئول ناباروری (بروز آزواسپرمی و الیگواسپرمی) می‌باشد، عبارتند از: DDX3Y، USP9Y (در ناحیه AZFa)، RBMY و PRY (در ناحیه AZFb) و DAZ (در ناحیه AZFc)(۳).

آنالیز حذف نواحی از کروموزوم، به‌طور معمول به‌روش PCR و با استفاده از پرایمرهای مختلف STS مارکرها در ناحیه AZF انجام می‌شود. میزان بروز ریزحذف‌ها در مردان نابارور، بین مطالعات مختلف از یک تا ۵۵درصد متفاوت است. هرچند آمار دقیقی از میزان ناباروری در ایران وجود ندارد، اما به‌نظر می‌رسد که همانند بسیاری از کشورهای منطقه و جهان، بین ۱۵ تا ۲۰درصد باشد (۴). یکی از اهداف مهم بررسی ریزحذف‌های کروموزوم Y در مردان نابارور، به‌علّت احتمال انتقال ریزحذف‌ها از طریق روش‌های کمک باروری به نسل بعد و امکان انتقال ناهنجاری به فرزندان آنها می‌باشد. هدف از انجام این مطالعه، تعیین میزان بروز ریزحذف‌های ناحیه AZF در مردان نابارور مشهدی مراجعه‌کننده به مرکز ناباروری منتصریه با آزواسپرمی و الیگواسپرمی غیر انسدادی ایدیوپاتیک، با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز چندگانه بود. یافته‌های این مطالعه می‌تواند راه‌گشای مهمی در هنگام مشورت با زوجین نابارور، بـه ویـژه قبـل از استفاده از روش‌های کمک‌باروری باشد و ممکن است شواهد کافی برای پزشکان به‌منظور تصمیم‌گیری هر چه بهتر، قبل از اقدام به روش‌های کمک‌باروری را فراهم کند.

روش تحقیق

انتخاب بیمار و آنالیز سیتوژنتیکی

در این مطالعه توصیفی، ۴۵مرد نابارور مراجعه‌کننده به مرکز ناباروری منتصریه مشهد طی تابستان ۱۳۹۲ که در محدوده سنّی ۲۵ تا ۶۱ سال قرار داشتند و دارای میانگین سنّی ۴۰سال (۲۵ تا ۶۱ سال) بودند، در طی تیرماه ۱۳۹۲ تا مهر ماه ۱۳۹۳، مورد ارزیابی قرار گرفتند. معیارهای ورود به مطالعه، ابتلا به آزواسپرمی غیرانسدادی و یا الیگواسپرمی شدید بود. بیمارانی که دچار آزواسپرمی و یا الیگواسپرمی شدید ناشی از انسداد مجاری (واریکوسل) و یا بیماری‌های

[1] *Idiopathic*

شناخته‌شده مثل: بیماری‌های عفونی و کریپتوکیدیسم (عدم نزول بیضه) بودند و یا دارای سابقه جراحی روی مجاری ادراری بودند، از مطالعه خارج شدند. برای رعایت اصول اخلاقی، پس از ارائه توضیحات لازم به بیمار، رضایت‌نامه کتبی از فرد، دریافت شد و سپس پرسشنامه تکمیل گردید. ۵مرد بارور دارای فرزند با فرمول کروموزومی XY46، برای بررسی و اطمینان از عدم بروز جهش در افراد سالم بارور، به‌عنوان کنترل‌های مثبت و یک زن بارور نرمال به‌عنوان کنترل منفی برای اطمینان از عدم حضور فاکتورهای AZF در کروموزوم جنسی انتخاب شدند.

استخراج DNA

از هر یک از افراد مورد مطالعه، ۵میلی‌لیتر خون گرفته شد و در لوله‌های حاوی اتیلن دی امین تترا استیک‌اسید (EDTA) به‌عنوان مادّه ضدّ انعقاد ریخته و به آزمایشگاه ارسال شد. توسط کیت Gene JET PCR Purification Kit# K0721 شرکت Scientific Thermo (آمریکا)، DNA از نمونه‌های خون استخراج گردید و برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR)، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

انتخاب STS پرایمرها و انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز

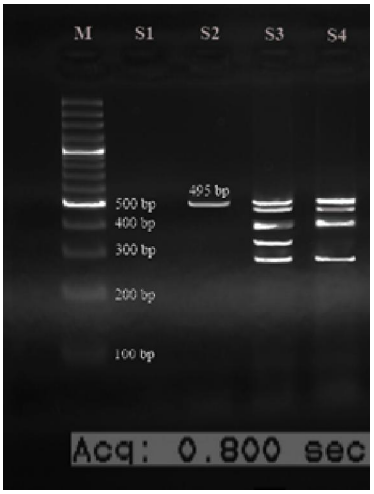
برای شناسایی ریزحذف‌های نواحی سه‌گانه کروموزوم Y در افراد بیمار و بررسی افراد کنتر، تعداد ۳ نشانگر STS و یک نشانگر برای ناحیه SRY، طبق راهنمای استاندارد EAA/EMQN (آکادمی اندرولوژی/ شبکه کیفیت ژنتیک مولکولی اروپا) انتخاب گردید. این STSها عبارتند بودند از: sY86 برای ناحیه AZFa، sY127 برای ناحیه AZFb و sY254 برای ناحیه AZFc که در جدول یک آمده است. برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، از مخلوط کامل که حاوی بافر PCR، مخلوط dNTPها با غلظت ۱۰میلی‌مولار، آنزیم پلیمراز Taq به‌غلظت ۵واحد در میکرولیتر و ۲۵میلی‌مولار MgCl بود، به‌میزان ۱۰میکرولیتر به‌ازای هر واکنش استفاده شد. در هر واکنش، ۱/۵ میکرولیتر از نمونه DNA استخراج‌شده به همراه ۵میکرولیتر از مخلوط پرایمرها و ۸/۵ میکرولیتر آب دوبار تقطیر، به‌منظور رساندن حجم واکنش به ۲۵میکرولیتر استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز توسط دستگاه ترموسایکلر BIOMETRA ساخت شرکت BIOMETRA کشور آلمان به‌صورت ۳۰ سیکل شامل: واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵دقیقه، واسرشته‌سازی، اتصال پرایمرها و طویل‌سازی به‌ترتیب: در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه، در دمای ۵۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه و در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۹۰ ثانیه انجام شد. در نهایت یک مرحله طویل‌سازی به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. در نهایت محصول PCR تهیه‌شده توسط ژل اگارز ۲ درصد، الکتروفورز شده و با استفاده از رنگ‌آمیزی اتیدیوم‌بروماید، مورد مشاهده و تشخیص قرار گرفت.

جدول ۱- توالی پرایمرهای استفاده‌شده در این مطالعه

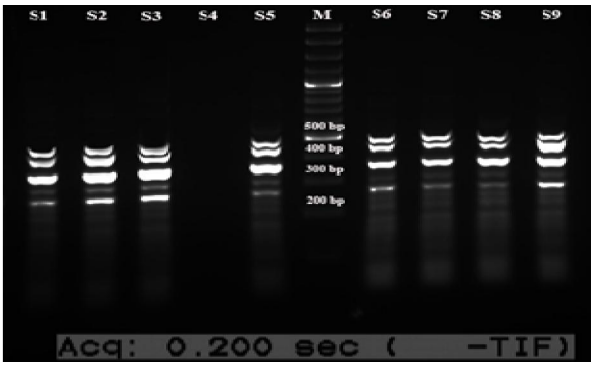
ردیف	نام پرایمر	توالی پرایمر (از '5 به '3)	طول قطعه تولیدی
۱	sY86-رفت	GTGACACACAGACTATGCTTC	۳۲۰
۲	sY86-برگشت	ACACACAGAGGGACAACCCT	۳۲۰
۳	sY127-رفت	GGCTCACAAACGAAAAGAAA	۲۷۴
۴	sY127-برگشت	CTGCAGGCAGTAATAAGGGA	۲۷۴
۵	sY254-رفت	GGGTGTTACCAGAAGGCAAA	۳۸۰
۶	sY254-برگشت	GAACCGTATCTACCAAAGCAGC	۳۸۰
۷	SRY-رفت	GAATATTCCCGCTCTCCGGA	۴۷۰
۸	SRY-برگشت	GCTGGTGCTCCATTCTTGAG	۴۷۰

یافته‌ها

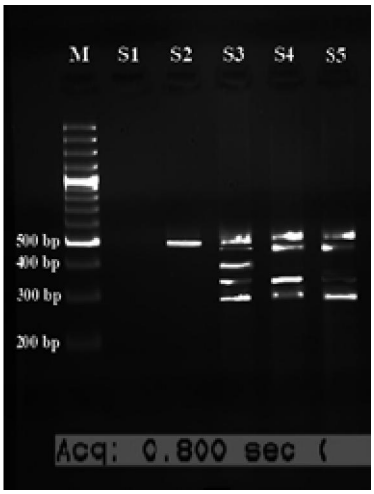
۴۵ مرد نابارور که مبتلا به آزواسپرمی و الیگواسپرمی غیرانسدادی بودند، مورد مطالعه مولکولی قرار گرفتند. نتایج کلی مطالعه در جدول ۲ نشان داده شده است. همه مردان نابارور، کاریوتایپ نرمال XY46 داشتند. در ۲نفر از ۲۶بیمار آزواسپرم (۷/۷درصد)، ریزحذف در ناحیه AZFc (نشانگر sY254) مشاهده شد (شکل ۱).



شکل ۱- حذف نشانگر sY86 در یک بیمار دارای حذف در ناحیه AZFa. S1: کنترل منفی (نمونه فاقد DNA)، S2: کنترل منفی (DNA زن سالم)، S3: کنترل مثبت (DNA مرد سالم)، S4: محصول PCR با DNA مرد دارای میکرودلیشن در ناحیه AZFa، M: مارکر bp100



شکل ۲- حضور مارکر sY127 در همه نمونه‌های مورد مطالعه. S4: کنترل منفی (نمونه فاقد DNA)، S1-S3 و S5-S9: محصولات PCR با DNA افراد بیمار آزواسپرم و اولیگواسپرم، M: نشانگر bp100.



شکل ۳- حذف نشانگر sY254 در بیمار دارای حذف در ناحیه AZFc. S1: کنترل منفی (نمونه فاقد DNA)، S2: کنترل منفی (DNA زن سالم)، S3: کنترل مثبت (DNA مرد سالم)، S4, S5: محصول PCR با DNA مرد دارای میکرودلیشن در ناحیه AZFc، M: نشانگر bp100

از ۱۹بیمار الیگواسپرم، یک نفر مرد (۵/۷) دارای حذف در ناحیه AZFa (نشانگر sY86) بود (شکل ۲). هیچ ریزحذفی در ناحیه AZFb مشاهده نشد و برای تمام افراد بیمار، باند مربوط به پرایمر به‌کار رفته در این ناحیه، وجود داشت (شکل ۳). بررسی‌های آماری نشان داد که به‌لحاظ وقوع حذف، میان افراد اولیگو اسپرمی و آزواسپرمی، اختلاف معنی‌داری (P>۰/۰۵) وجود نداشت (جدول ۲).

جدول ۲- فراوانی مطلق و نسبی ریزحذف‌ها در انواع بیماران تحت مطالعه

نوع تشخیص	بیماران		ریزحذف‌ها	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد
اولیگواسپرم	۱۹	۴۲/۲	۱	۵/۷
آزواسپرم	۲۶	۵۷/۸	۲	۷/۷
اولیگو و آزواسپرم	۴۵	۱۰۰	۳	۱۳/۴

بحث

به‌طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که بیشترین ریزحذف‌های کروموزوم Y، در ناحیه AZFc و به‌دنبال آن در ناحیه AZFa اتفاق افتاد. ریزحذف‌های کروموزوم Y، دومین

علت اصلی ناباروری در مردان بعد از سندروم کلاین‌فلتر[1] می‌باشد (۱). حذف‌های کروموزوم Y، باعث افزایش میزان نقص در روند اسپرماتوژنز می‌شود؛ به‌طوری‌که فراوانی این ریزحذف‌ها بین یک تا ۵۵درصد گزارش شده است (۳). تفاوت‌های قومی و منطقه‌ای از عوامل مؤثّر در تنوع و میزان شیوع ریزحذف‌های کروموزوم Y به‌شمار می‌روند (۵). علاوه بر این، ناهمگونی فنوتیپی در حذف‌های نواحی AZF، می‌تواند ناشی از تأثیرات محیطی بیان ژنی متفاوت در اثر تغییرات ژنی، نفوذ متغیر و حضور همولوگ‌های اتوزومال باشد. در دهه گذشته، مطالعات فراوانی در رابطه با ریزحذف‌های کروموزوم Y انجام شده است. نتایج حاصل از این مطالعات نشان داده که بیشترین ریزحذف‌های کروموزوم Y، در ناحیه AZFc با فراوانی ۶۰درصد در مردان مبتلا به ناباروری اتفاق افتاده است (۵). در مطالعه حاضر میزان ریزحذف‌های کروموزوم Y، بالغ بر ۱۳/۴درصد بود که این میزان، مطابق با فراوانی گزارش‌شده توسط آکادمی آندرولوژی اروپا می‌باشد. از ۴۵مرد نابارور مبتلا به آزواسپرمی، دو نفر (۷/۷درصد) دارای ریزحذف در ناحیه AZFc و یک بیمار (۵/۷درصد) دارای ریزحذف در ناحیه AZFa بودند. بیشترین میزان ریزحذف‌های کروموزوم Y مردان مبتلا به آزواسپرمی و اولیگواسپرمی غیر انسدادی، مربوط به ناحیه AZFc بود. در عین حال، ناباروی سایر افراد مورد مطالعه در این پژوهش، می‌تواند ناشی از تأثیرات محیطی، اختلالات هورمونی و سایر علل ناشناخته باشد. این یافته‌ها با نتایج مطالعات پیشین که میزان ریزحذف‌های ناحیه AZFc را بیشتر از ریزحذف‌های سایر نواحی AZF بیان کرده بودند، مطابقت دارد (۵، ۶). این در حالی است که بعضی از مطالعات، ریزحذف‌های ناحیه AZFc را ۵درصد از ۴۰مرد نابارور و میزان کل ریزحذف‌های نواحی AZF را بسیار پایین گزارش کرده‌اند که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت ندارد (۷، ۸). همچنین در مطالعه انجام‌شده توسط میرفخرایی و همکاران بر روی مردان نابارور مبتلا به آزواسپرمی، بیشترین میزان ریزحذف‌های کروموزوم Y، در ناحیه AZFb با فراوانی ۶۶/۶۷درصد و ناحیه AZFc با فراوانی ۴۱/۶۷درصد گزارش شده است که با نتایج این مطالعه مغایرت دارد (۹)؛ این درحالی است که در بعضی از مطالعات، هیچ ریزحذفی در نواحی AZF بر روی کروموزوم Y مردان نابارور گزارش نشده است (۲، ۴). این تفاوت در فراوانی حذف‌ها و نقاط حذف‌شده در مطالعات مختلف، ممکن است به‌دلیل تفاوت‌های ژنتیکی جمعیت‌های مختلف به‌ویژه هاپلوتیپ‌های مخصوص کروموزوم Y، سابقه ژنتیکی با اثرات محیطی و همچنین پرایمرهای مختلف به‌کارگرفته باشند؛ علاوه بر این، تعداد بیماران مورد بررسی، نحوه انتخاب بیماران بر حسب شدّت اختلال در اسپرم، علت‌شناسی اختلال در اسپرماتوژنز و تفاوت‌های اقلیمی و ناحیه‌ای نیز می‌تواند در تفاوت فراوانی‌ها مؤثّر باشد (۱۰). بر اساس نتایج مطالعات اخیر، بسیاری از موارد آزواسپرمی و اولیگواسپرمی‌های غیر انسدادی، منشأ ژنتیکی دارند؛ بنابراین توصیه می‌شود که همه مردان دارای حذف‌های ناحیه AZFc، با توجه به تأثیر منفی پیش‌رونده ریزحذف‌های کروموزوم Y در تولید اسپرم و کاهش تعداد اسپرم، حتی فقدان کامل در زمان بلوغ تحت آزمایش‌های آندرولوژیکی قرار بگیرند و در صورت مشاهده اسپرم دوران جوانی قبل از آسیب‌های ناشی از بالارفتن سن، اسپرم آنها ذخیره گردد (۵). باید ذکر شود که از جمله ضعف‌های این مطالعه، نبود گروه کنترل مناسب همسان‌سازی‌شده با بیماران بود.

نتیجه‌گیری

تجزیه و تحلیل ریزحذف‌های کروموزومY، به‌عنوان یک آزمایش مولکولی با اهمیت برای کسب اطلاعات ژنتیکی قابل اعتماد در مردان مبتلا به ناباروری، قبل از استفاده از تکنیک‌های کمک باروری توصیه می‌شود؛ این امر به کاهش هزینه‌ها و مشکلات این تکنیک کمک خواهد نمود.

[1] *Klinefelter syndrome*

تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله از پرسنل محترم مرکز ناباروری منتصریه مشهد که ما را در انجام این مطالعه یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌شود. این پژوهش با همکاری گروه علوم دامی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شده است که از همکاری و مساعدت آنها تقدیر و تشکر می‌گردد.

منابع:

1- Peterlin B, Kunej T, Hristovski D. Diagnostic test for Y chromosome microdeletion screening in male infertility. Genet Test. 2004; 8(1): 45-9.

2- 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.

3- Elhawary NA, Seif-Eldin NS, Zaki M, Diab H, Teama S, Saleh SA. Common Tag STSs in the AZF region associated with azoospermia and severe oligospermia in infertile egyptian men. Open Androl J. 2010; 2: 11-8.

4- Hamada AJ, Esteves SC, Agarwal A. A comprehensive review of genetics and genetic testing in azoospermia. Clinics (Sao Paulo). 2013; 68(suppl 1): 39-60.

5- Wang RX, Fu C, Yang YP, Han RR, Dong Y, Dai RL, et al. Male infertility in China: laboratory finding for AZF microdeletions and chromosomal abnormalities in infertile men from Northeastern China. J Assist Reprod Genet. 2010; 27(7): 391-6.

6- Krausz C, Forti G, McElreavey K. The Y chromosome and male fertility and infertility. Int J Androl 2003; 26(2): 70-5.

7- Fu L, Xiong DK, Ding XP, Li C, Zhang LY, Ding M, et al. Genetic screening for chromosomal abnormalities and Y chromosome microdeletions in Chinese infertile men. J Assist Reprod Genet 2012; 29(6): 521-7.

8- Totonchi M, Mohseni Meybodi A, Borjian Boroujeni P, Sedighi Gilani M, Almadani N, Gourabi H. Clinical data for 185 infertile Iranian men with Ychromosome microdeletion. J Assist Reprod Genet. 2012; 29(8): 847-53.

9- Mirfakhraie R, Mirzajani F, Kalantar SM, Montazeri M, Salsabili N, Pourmand GR, et al. High prevalence of AZFb microdeletion in Iranian patients with idiopathic non-obstructive azoospermia. Indian J Med Res. 2010; 132: 265-70.

10- Zaimy MA, Kalantar SM, Sheikhha MH, Jahaninejad T, Pashaiefar H, Ghasemzadeh J, Zahraei M. The frequency of Yq microdeletion in azoospermic and oligospermic Iranian infertile men. Iran J Reprod Med. 2013; 11(6): 453-8.

Abstract *Original Article*

Molecular investigation of Y chromosome microdeletions in AZF regions of the non-obstructive azoospermic and oligospermic patients referred to Montaseriyeh infertility center in Mashhad

Masoume Vakili Azghandi [1], Mohammad Reza Nassiri[2], Ali Shamsa[3], Mohsen Jalali[4], Mohammad Mahdi Shariati[5]

Background and Aim: The Y-chromosome azoospermic factor (AZF) regions consist of genes whose specific roles and functions in spermatogenesis and fertility have not been completely clarified. Hence, recognition of the association between AZF microdeletions and male infertility has suggestions for the diagnosis, treatment, and genetic counseling. The main objective of the present study was investigation of Y chromosome microdeletions in the non-obstructive azoospermic and oligospermic patients in Mashhad and identification of appropriate STS markers associated with azoospermia and oligospermia.

Materials and Methods: This descriptive-analytical study was performed on 45 infertile men with azoospermia and oligospermia with normal karyotypes referred to infertility center of Montaseriyeh hospital in Mashhad. Molecular screening technique was performed by using Multiplex PCR and sequence-tagged sites (STS) primers according to the EAA/EMQN guideline for detection of microdeletions in Y-chromosomal AZF regions and the Y specific sequences.

Results: Three out of 45 infertile men had deletions in the AZFc and AZFa regions. Among every 3 infertile men, two patients (7.7%) and one patient (5%) had microdeletion in the AZFc region and in the AZFa, respectively. The results indicated that AZF microdeletions had a significant effect on azoospermia and oligospermia in infertile men.

Conclusion: Y-chromosome microdeletion analysis can be recommended as an important molecular test for infertile males to obtain reliable genetic information before the administration of assisted-reproductive techniques. It will help to decrease the cost and technical difficulty of the procedure.

Key Words: Azoospermia; Oligospermia; Microdeletion; Infertility; AZF

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2015; 22 (2): 154-160.

Received: January 15, 2015 ***Accepted: April 29, 2015***

1 MSc student in Animal Breeding and Genetics, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran;
2 Corresponding author; Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran Email:nassiryr@um.ac.ir
3 Professor, Department of Urology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran;
4 Assistant Professor, Department of Urology, Faculty of Medicine, Montaseriye Infertility Center, Mashhad, Iran;
5 Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.