



بررسی و مقایسه فراوانی ریز حذف‌های نواحی AZF کروموزوم Y در قومیت‌های مختلف مردان نابارور ایرانی

محمد رضا زمانیان: استادیار، گروه ژنتیک، مرکز تحقیقات علوم تولید مثل، پژوهشگاه رویان، جهاد دانشگاهی، تهران، ایران (* نویسنده مسئول) zamanzss@gmail.com

فهمیه اسدی: پژوهشگر، مرکز تحقیقات علوم تولید مثل، پژوهشگاه رویان، جهاد دانشگاهی، تهران، ایران

محمد علی صدیقی گیلانی: استاد، گروه آندروولوژی، مرکز تحقیقات علوم تولید مثل، پژوهشگاه رویان، جهاد دانشگاهی، تهران، ایران

آزاده قاهری: استادیار، گروه اپیدمیولوژی، مرکز تحقیقات علوم تولید مثل، پژوهشگاه رویان، جهاد دانشگاهی، تهران، ایران

پرناز برجیان بروجنی: پژوهشگر، گروه ژنتیک، مرکز تحقیقات علوم تولید مثل، پژوهشگاه رویان، جهاد دانشگاهی، تهران، ایران

چکیده

کلیدواژه‌ها

الیگو اسپرمی،

آزواسپرمی،

کروموزوم Y،

ناحیه آزواسپرمی

زمینه و هدف: ریزحذف‌های بازوی بلند کروموزوم Y (Yq)، شایع‌ترین علت مولکولی ناباروری شدید مردانه می‌باشد که در برگیرنده سه ناحیه AZFa، AZFb و AZFc می‌باشد. هر کدام از نواحی ذکر شده حاوی ژن‌های مختلف درگیر در روند ساخت اسپرم (اسپرماتوژنز) می‌باشند. تاکنون الگوهای قومی در نحوه توزیع ریزحذف‌های ذکر شده در جمعیت مردان نابارور ایرانی بررسی گسترده نشده است. مطالعه حاضر در نظر دارد این الگوهای قومی را در مردان مبتلا به الیگواسپرمی شدید یا آزواسپرمی مورد بررسی قرار دهد.

روش کار: ۱۸۸۷ مرد نابارور مراجعه‌کننده به موسسه رویان با تشخیص الیگواسپرمی شدید یا آزواسپرمی به لحاظ وجود ریزحذف‌های بازوی بلند کروموزوم Y با روش مولتی پلکس PCR و بر اساس تعیین شش STS مارکر مختلف مورد بررسی قرار گرفتند. بیماران همچنین بر اساس محل تولد و گویش سه نسل مذکر متوالی خود در قومیت‌های آذری (ترک)، فارس، کرد، گیلک/مازنی (شمالی)، لر و عرب طبقه بندی شدند.

یافته‌ها: از بین ۱۸۸۷ مرد نابارور مورد بررسی ۱۰۰ نفر دارای ریز حذف (۵/۲۹٪) تشخیص داده شدند. از این میان ۳۸ نفر از قومیت آذری (۳۸٪)، ۳۰ نفر فارس (۳۰٪)، ۱۱ نفر کرد (۱۱٪)، ۸ نفر لر (۸٪)، ۶ نفر گیلک/مازنی (۶٪) و ۲ نفر عرب (۲٪) و ۵ نفر نیز از اتباع سایر کشورها (عراقی و افغانستانی) بودند (۵٪). به‌طور کلی از بین ۱۰۰ مرد دارای ریز حذف ۷۰ مورد دارای ریز حذف در AZFc (۷۰٪)، ۷ نفر دارای ریز حذف در AZFb (۷/۴٪) و ۳ نفر دارای ریز حذف در AZFa (۴/۶٪) بودند. همچنین ریزحذف‌های ریز حذف ترکیبی AZFbc در ۱۸ نفر و AZFabc نیز در ۳ نفر مشاهده گردید. آزمون کای-دو حاکی از عدم یکنواختی فراوانی ریز حذف‌ها در بین اقوام مردان نابارور ایرانی بود گرچه الگوی توزیع در اقوام مختلف یکسان بود.

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد فراوانی کلی و الگوی توزیع ریزحذف‌های کروموزوم Y در جمعیت عمومی مردان نابارور ایرانی مشابه سایر جمعیت‌ها در جهان بوده و ریز حذف در AZFc شایع‌ترین فرم آن می‌باشد. علی‌رغم اینکه الگوی توزیع ریزحذف‌های مختلف در بین اقوام ایرانی مشابه به‌نظر می‌رسد اما ظاهراً توزیع یکنواختی نداشته و برای بررسی بهتر مطالعات با حجم نمونه بیشتر و به‌صورت تجمیع نتایج مراکز ناباروری از استان‌های مختلف پیشنهاد می‌گردد.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت‌کننده: حامی مالی ندارد.

شیوه استناد به این مقاله:

Zamanain MR, Asadi F, Sadighi-Gilani MA, Ghaheri A, Borjian Boroujeni P. Evaluation and comparison of the frequency of Y-chromosome microdeletions in different ethnicities of Iranian infertile men. Razi J Med Sci. 2021;28(9):45-57.

*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.

Evaluation and comparison of the frequency of Y-chromosome microdeletions in different ethnicities of Iranian infertile men

- Mohammadreza Zamanain:** Assistant Professor, Genetics Department, Reproductive Sciences Center, Royan Institute, Academic Center for Education, Culture and Research, Tehran, Iran (* Corresponding author) zamanzss@gmail.com
- Fahimeh Asadi:** Reproductive Sciences Center, Royan Institute, Academic Center for Education, Culture and Research, Tehran, Iran
- Mohammadali Sadighi-Gilani:** Professor, Andrology Department, Reproductive Sciences Center, Royan Institute, Academic Center for Education, Culture and Research, Tehran, Iran
- Azadeh Ghaheri:** Assistant Professor, Epidemiology Department, Reproductive Sciences Center, Royan Institute, Academic Center for Education, Culture and Research, Tehran, Iran
- Parnaz Borjian Boroujeni:** Genetics Department, Reproductive Sciences Center, Royan Institute, Academic Center for Education, Culture and Research, Tehran, Iran

Abstract

Background & Aims: Infertility means that a couple does not become fertile after one year of sexual intercourse, which is faced by 10-15% of young couples, and in 50% of cases it is related to male defects. The spermatogenesis genes involved in male fertility are located in the proximal region of the long arm of the Y chromosome (Yq11) in the azoospermia factor region, which includes the AZFa, AZFb, and AZFc subunits. Microdeletion in AZF regions causes changes in testicular histology from Sertoli Cell Only Syndrome to hypospermatogenesis. Yq microdeletions are the most common molecular cause of male infertility and include three regions: AZFa, AZFb and AZFc. These regions contain different genes involved in spermatogenesis. Yq microdeletions have been reported in 5-10% of infertile men and 6-16% of azoospermic men. In some other studies, the prevalence of these microdeletions has been reported in 20 to 30% of patients with non-obstructive azoospermia and in 3 to 7% of patients with severe idiopathic oligospermia. So far, ethnic patterns in the distribution of these microdeletions in the Iranian infertile male population have not been extensively studied. Accordingly, considering that Iran is a geographically vast country and has a high population / ethnic diversity, the present study aims to investigate the overall prevalence of these microdeletions in the population of Iranian infertile men and compare its frequency distribution in it was designed and implemented between different ethnicities.

Methods: In this study 1887 infertile men with severe oligospermia or azoospermia were referred to the Royan Institute between 1391 to 1392 were evaluated for the presence of Yq microdeletions. At first, DNA was extracted from the peripheral blood by salting out method and multiplex PCR was performed based on the determination of six different STS markers. To identify Yq microdeletions in three regions of AZFa, AZFb and AZFc, six STS markers were used inside two separate mixes. Two STS markers were considered for each AZF region and sY14 marker was used to examine the SRY gene and the ZFX / ZFY marker were used as internal controls. Information about semen analysis (Spermogram) and the results of patients' hormonal tests for the three hormones LH, FSH and testosterone were also extracted from their files. The ethnic segregation and classification of the Iranian male population was based on latest version of the Encyclopaedia Britannica (2010) book from the Statistics Center of Iran. Accordingly, the men studied in this study were classified into the ethnicities mentioned

Keywords

Male infertility,
AZF,
Microdeletion,
Ethnicity

Received: 05/09/2021

Published: 05/12/2021

in the Table 1. For the appointment of ethnicity in each of the men under this study, the place of birth and dialect of three consecutive generations of clients were determined and then were placed in one of the seven ethnic groups including Fars, Azeri (Turkish), Kurdish, Lor, Gilak/ Mazeni (northern), Arabic And non-Iranians (Afghans and Iraqis).

Results: Among the 1887 studied infertile men, 100 were diagnosed with microdeletions (5.29%), 69 patients (68.3%) had azoospermia and 31 patients (30.6%) had severe oligospermia. Among men with microdeletions, 70% had deletion in AZFc, 25.4% had deletion in AZFb and 4.6% had deletion in AZFa. Combined deletions of AZFbc were observed in 18 patients and AZFabc in three patients. All men with AZFa, AZFb, AZFc, AZFbc, and AZFabc regions had non-obstructive azoospermia, and only men with AZFc and AZFb microdeletions showed evidence of sperm production. Among the patients with microdeletions, 47 patients (46.5%) had normal hormone levels, 22 patients (21.7%) had higher than normal levels of FSH, two patients had high levels of LH and 14 patients (13.8%) had high levels of both LH and FSH. The results of hormonal tests were not available in 16 of them. Ethnic distribution in 100 patients showed that 38% were Azeri, 30% Persian, 11% Kurdish, 8% Lor, 6% Gilak/ Mazani, 2% Arab and 5% Iraqi and Afghan nationals. The results of chi-square test showed that the distribution of different Y chromosome microdeletions is not uniform among Iranian ethnicities ($p < 0.001$).

Conclusion: Ethnic and racial differences can also be influential factors in the prevalence of these microdeletions, which we examined in the present study. Such a complete study of Iranian ethnicities has not been done before, and in other parts of the world, studies have not usually been aimed at comparing ethnicities. The overall frequency and distribution pattern of Yq microdeletions in the population of Iranian infertile men is similar to other populations in the world. The pattern of distribution of different microdeletions among different Iranian ethnicities seems to be similar. This means that in all ethnicities that accounted for a significant number of deletion patients (Turks, Fars, and Kurds), Yq microdeletions were most common in the AZFc region. After that, AZFb and AZFa were more frequent, respectively. In fact, ethnicity did not have a significant effect on the distribution of these microdeletions and no significant results were observed in this regard. Regarding the frequency of different microdeletions (frequency of distribution) in various Iranian ethnicities, considering that the number of samples of some microdeletions in some ethnicities was less than the amount required for statistical analysis, the number of people studied in each ethnicity has been adjusted. Statistical analysis of these results using chi-square test showed that the frequency of microdeletions in ethnicities is not uniform ($p < 0.001$), therefore, the ethnicity of the Iranian infertile man is influential in the frequency of distribution of these microdeletions. However, due to the insufficient number of people with microdeletions in some ethnicities, it is not possible to determine with sufficient statistical accuracy which microdeletions occurs more frequently in which ethnicity. In this regard, it seems that the referral of Royan Infertility Treatment Center and the existence of infertility treatment centers in the centers of some provinces have affected the ethnic composition of the client. Therefore, it is suggested that in future and supplementary studies, in order to create an appropriate ethnic distribution in the referring population, while increasing the sample size (especially for some ethnicities) if possible with the cooperation of infertility treatment centers in other provinces, comprehensive studies in this regard be used to achieve a more definite result in this regard.

Conflicts of interest: None

Funding: None

Cite this article as:

Zamanain MR, Asadi F, Sadighi-Gilani MA, Ghaheri A, Borjian Boroujeni P. Evaluation and comparison of the frequency of Y-chromosome microdeletions in different ethnicities of Iranian infertile men. *Razi J Med Sci.* 2021;28(9):45-57.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

مقدمه

ناباروری به معنی بارور نشدن یک زوج پس از یک سال مقاربت جنسی است (۱) که ۱۵-۱۰٪ از زوج‌های جوان با آن روبرو هستند و در ۵۰٪ از موارد مربوط به عیوب مردانه می‌باشد (۲). عوامل مختلفی همچون واریکوسل، انسداد لوله‌های اسپرمی، اختلال نعوظ و اجاکولاسیون، اختلالات هورمونی و نقایص ژنتیکی برای ناباروری مردان شناخته شده است (۳). ژن‌های کنترل‌کننده اسپرماتوژنز که در باروری مردان نقش دارند بر روی ناحیه پروکزیمال بازوی بلند کروموزوم Y (Yq11) در ناحیه فاکتور آزواسپرمی (Azoospermia Factor) که شامل زیر نواحی AZFa، AZFb و AZFc است، قرار گرفته‌اند (۴). وجود ریزحذف در نواحی AZF باعث ایجاد تغییرات در بافت‌شناسی بیضه از سندروم سلول سرتولی تنها (Sertoli Cell Only Syndrome) تا هیپواسپرماتوژنیز می‌شود (۲).

Tiepole و Zuffardi در سال ۱۹۶۷ برای اولین بار وجود رابطه میان حذف‌های کروموزوم Y و ناباروری مردان را مطرح کردند (۲). در سال ۱۹۹۶، Vogot و همکاران ۳۷۰ مرد با آزواسپرمی آیدیوپاتیک و لیگواسپرمی شدید را برای ریزحذف‌های کروموزوم Y مورد بررسی قرار دادند که ۱۳ نفر از آنها در سه ناحیه AZFa، AZFb و AZFc دارای ریزحذف بودند (۵). ۱۴ خانواده ژنی کدکننده پروتئین بر روی نواحی AZF قرار دارد. غالباً حذف در این نواحی به ۶ حالت در بازوی بلند کروموزوم Y اتفاق می‌افتد: AZFa، AZFb، AZFc، AZFabc و حذف‌های جزئی AZFc. حذف‌های کامل و جزئی AZFc ۶۰٪ و ریزحذف‌های AZFb نیز ۱۶٪ موارد ریزحذف کروموزوم Y را شامل می‌شوند (۶).

ریزحذف‌های بازوی بلند کروموزوم Y در نواحی AZF شایع‌ترین علت قابل تشخیص نقص در اسپرماتوژنیز با روش‌های مولکولی در مردان می‌باشد (۷). این حذف‌ها در ۵-۱۰٪ از مردان نابارور و ۱۶-۶٪ از مردان آزواسپرم گزارش شده‌اند (۶). در بعضی منابع دیگر شیوع این ریزحذف‌های در ۲۰ الی ۳۰ درصد از بیماران با آزواسپرمی غیرانسدادی و در ۳ تا ۷ درصد از بیماران با لیگواسپرمی آیدیوپاتیک شدید گزارش شده است (۸). بررسی مطالعات قبلی در جهان و به خصوص ایران

بیانگر وجود اختلافات بعضاً چشمگیر در میزان فراوانی ریزحذف‌های گزارش شده توسط گروه‌های مختلف می‌باشد. علت این اختلافات علاوه بر اینکه نتیجه تفاوت در طراحی مطالعه از جمله نحوه انتخاب معیارهای ورود و عدم ورود و یا حجم جمعیت مورد مطالعه باشد، می‌تواند ناشی از منشأ نژادی/قومیتی و خاستگاه جغرافیایی جمعیت مورد مطالعه نیز باشد که در مطالعات قبلی خصوصاً در ایران کمتر مورد توجه و بررسی قرار گرفته است. بررسی پژوهش‌های صورت گرفته در ایران نشان داد هیچ مطالعه جامعی در مورد میزان شیوع ریزحذف‌های نواحی AZF و الگوی توزیع آنها بر اساس قومیت‌های مختلف ایرانی انجام نگرفته است. برای مثال مطالعه‌ی عمرانی و همکاران تنها بر روی اقوام آذری و کرد در شمال غربی ایران انجام شد که شیوع حدود ۳۰٪ برای ریزحذف‌ها را نشان داد (۹). همچنین ملک عسگر و همکاران، شیوع این ریزحذف‌ها را در جنوب ایران بررسی کردند که میزان حدود ۵۱/۱۶٪ (بسیار بالاتر از شیوع بین‌المللی) گزارش نمودند (۱۰). در جهان نیز مطالعات محدودی در این زمینه انجام شده است. برای مثال Sakhtivel و همکاران به بررسی این ریزحذف‌ها در مردان نابارور در جنوب هند در منطقه Tamil Nadu در میان قوم Dravidian پرداختند و در ۱۲/۹٪ از بیماران مورد بررسی، این ریزحذف‌ها را مشاهده کردند (۱۱). در مطالعه‌ی Sargin نیز که به بررسی فراوانی ریزحذف‌ها در مردان ترکیه‌ای پرداخت میزان پایین و غیرمعمول شیوع ریزحذف‌ها (۳/۳٪) گزارش شد (۱۲).

بر این اساس و با توجه به اینکه ایران کشوری پهناور به لحاظ جغرافیایی بوده و تنوع جمعیتی/قومی بالایی را نیز دارا می‌باشد، مطالعه حاضر با هدف بررسی میزان شیوع کلی این ریزحذف‌ها در جمعیت مردان نابارور ایرانی و مقایسه فراوانی توزیع آن در بین قومیت‌های مختلف طراحی و اجرا گردید.

روش کار

جمعیت مورد مطالعه: پژوهش حاضر با کد ۹۱۰۰۴۲۷ در کمیته اخلاق پژوهشگاه رویان مورد تصویب قرار گرفت (IR.ACECR.ROYAN.REC. 1395.1). در این پژوهش بر روی ۱۸۸۷ مرد نابارور

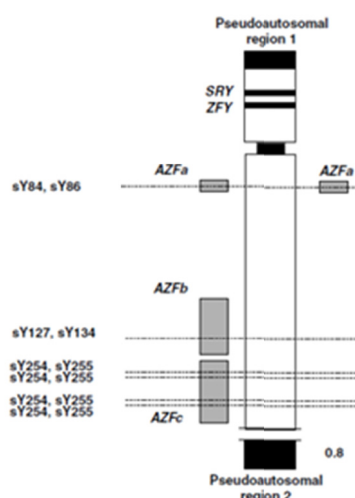
AZF دو مارکر STS در نظر گرفته شد و از مارکر sY14 برای بررسی ژن SRY و مارکر ZFX/ZFY به عنوان کنترل‌های داخلی استفاده شد (جدول ۲). توالی پرایمرهای مورد نیاز از گایدلاین ذکر شده استخراج گردید. جایگاه این مارکرها بر روی کروموزوم Y در شکل ۱ نشان داده شده است. واکنش Multiplex PCR در دو میکس A و B به صورت جدول ۳ تنظیم و آماده

جدول ۱- فراوانی قومیتی در ایران

قومیت	درصد
فارس	۳۴/۹
آذربایجانی (ترک)	۱۵/۹
کرد	۱۳
لر	۷/۲
گیلکی	۵/۱
مازندرانی	۵/۱
افغانی	۲/۸
دیگر	۱۶

جدول ۲- مارکرهای STS اختصاصی نواحی AZF

ناحیه فاکتور	جایگاه	مارکر
آزواسپرمی		
AZFα	DYS148	sY86
AZFα	DYS273	sY84
AZFβ	DYS218	sY127
AZFβ	DYS224	sY134
AZFγ	DAZ	sY254
AZFγ	DAZ	sY255



شکل ۱- ساختار کروموزوم Y و جایگاه STS مارکرهای مختلف بر روی آن (۱۳).

مراجعه‌کننده به پژوهشگاه رویان انجام گرفت که طی سال‌های ۹۲-۱۳۹۱ برای ارزیابی علت ناباروری خود به لحاظ وجود ریز حذف‌های نواحی AZF مورد بررسی قرار گرفتند. اطلاعات مربوط به آنالیز مایع سمن (Spermogram) و نتایج آزمایشات هورمونی بیماران برای سه هورمون LH، FSH و تستوسترون از پرونده‌های آنان استخراج گردید. برای تمامی افراد ذکر شده در آزمایشگاه سیتوژنتیک پژوهشگاه بر اساس پروتکل‌های استاندارد کاریوتایپینگ صورت گرفت که اطلاعات مربوط به این بررسی هم از پرونده بیماران اخذ شد. در این پژوهش مردان ناباروری که دچار فقدان مادرزادی مجرای وازدفران، آزواسپرمی انسدادی، مشکلات غددی، واریکوسل و کریپتورکیدیسم بودند و یا سابقه شیمی‌درمانی یا پرتودرمانی، ورم بیضه و جراحی بیضه داشتند از جمعیت مورد مطالعه خارج شدند.

تفکیک و تعیین قومیت‌های ایرانی: برای تفکیک و دسته‌بندی قومیتی جمعیت مردان ایرانی به مرکز آمار ایران مراجعه شد. در جدیدترین نسخه‌ی کتاب Encyclopaedia Britannica (2010) تقسیم‌بندی قومیتی در ایران مطابق جدول ۱ صورت گرفته است. بر همین اساس مردان مورد مطالعه در این پژوهش در قومیت‌های ذکر شده در جدول ۱ دسته‌بندی گردیدند. جهت انتصاب قومیت در هر یک از مردان تحت این مطالعه محل تولد و زبان گویش سه نسل متوالی از مراجعین تعیین و سپس در یکی از ۷ گروه قومیتی شامل فارس، آذری (ترک)، کرد، لر، شمالی (گیلکی و مازنی)، عرب و غیر ایرانی (افغانستانی و عراقی) قرار داده شدند.

بررسی ریز حذف‌های کروموزوم Y: جهت بررسی وجود ریز حذف‌های کروموزوم Y در مردان نابارور مورد مطالعه استخراج DNA به روش Salting Out از خون محیطی صورت گرفت. بررسی ریز حذف‌ها به روش Multiplex PCR و بر اساس پروتکل استفاده شده در دستورالعمل موجود صورت گرفت. (۱۳، ۱۴). به‌طور خلاصه برای شناسایی ریز حذف‌های کروموزوم Y در سه ناحیه AZFα، AZFβ و AZFγ از ۶ مارکر (Sequence Tag Site) در داخل دو میکس جداگانه استفاده شد. بر اساس این دستورالعمل برای هر ناحیه

جدول ۳- ترکیب مارکری میکس های A و B برای تشخیص ریز حذف های کروموزوم Y

توالی پرایمر	اندازه محصول	AZF ناحیه	STS مارکر	
F- GTG ACA CAC AGA CTA TGC TTC R- ACA CAC AGA GGG ACA ACC CT	320bp	AZFa	sY86	Mix A
F- GGC TCA CAA ACG AAA AGA AA R- CTG CAG GCA GTA ATA AGG GA	274bp	AZFb	sY127	
F- GGG TGT TAC CAG AAG GCA AA R- GAA CCG TAT CTA CCA AAG CAG C	400bp	AZFc	sY254	
F- ACC RCT GTA CTG ACT GTG ATT ACA C R- GCA CYT CTT TGG TAT CYG AGA AAG T	-	-	ZFX/ZFY	
F- GAA TAT TCC CGC TCT CCG GA R- GCT GGT GCT CCA TTC TTG AG	-	SRY	sY14	
F- AGA AGG GTC CTG AAA GCA GGT R- GCC TAC TAC CTG GAG GCT TC	326bp	AZFa	sY84	Mix B
F- GTC TGC CTC ACC ATA AAA CG R- ACC ACT GCC AAA ACT TTC AA	301bp	AZFb	sY134	
F- GTT ACA GGA TTC GGC GTG AT R- CTC GTC ATG TGC AGC CAC	126bp	AZFc	sY255	
F- ACC RCT GTA CTG ACT GTG ATT ACA C R- GCA CYT CTT TGG TAT CYG AGA AAG T	-	-	ZFX/ZFY	
F- GAA TAT TCC CGC TCT CCG GA R- GCT GGT GCT CCA TTC TTG AG	-	SRY	sY14	

کروموزوم Y بودند که میانگین سنی آنها $41/6 \pm 34/5$ سال (۲۲-۴۵ سال) بود. از میان ۱۰۱ مورد ذکر شده ۶۹ نفر یعنی ۶۸/۳٪ به آزواسپرمی و ۳۱ نفر یعنی ۳۰/۶٪ به الیگواسپرمی شدید مبتلا بودند (نتیجه آزمایش ۱ نفر از مراجعین در دسترس نبود). همه مردان دارای ریز حذف در نواحی AZFa، AZFb، AZFc، AZFabc و چهار آزواسپرمی غیر انسدادی بوده و فقط در مردانی که دارای ریز حذف های نواحی AZFc و AZFb بودند شواهدی دال بر تولید اسپرم مشاهده می گردید.

بررسی هورمونی و نتایج کاربوتایپ: نتایج سنجش سه هورمون LH، FSH و تستوسترون برای ۱۰۱ بیمار دارای ریز حذف های کروموزوم Y مورد بررسی قرار گرفت. از این میان ۴۷ بیمار (۴۶/۵٪) سطح هورمون های نرمالی داشتند. ۲۲ بیمار (۲۱/۷٪) سطح هورمون FSH بالاتر از حد نرمال، ۲ بیمار سطوح بالای هورمون LH و ۱۴ بیمار نیز (۱۳/۸٪) دارای سطوح بالایی در هر دو هورمون LH و FSH بودند. از میان ۱۰۱ بیمار نتایج آزمایش هورمونی در ۱۶ نفر از آنها در دسترس نبود.

در مردان نابارور دارای ریز حذف های کروموزوم Y همچنین نتایج کاربوتایپ خون مورد بررسی قرار گرفت.

گردید. هر میکس شامل ۵۰ mM KCL، ۱۰ mM Tris-، ۲۰۰ μM dNTP، ۲ mM MgCl₂، ۱ μL و ۲ mM HCL pH=8 Taq DNA polymerase (CinnaGen, Iran) در حجم نهایی ۲۵ μL می گردید. برای کنترل مثبت از نمونه های مرد و زن سالم و نیز برای کنترل منفی از نمونه بدون DNA استفاده گردید. شرایط PCR به صورت آنیلینگ اولیه در ۹۵ درجه برای ۴ دقیقه، ۳۵ سیکل شامل ۳۰ ثانیه دناتوراسیون در ۹۴ درجه، آنیلینگ ۹۰ ثانیه در ۵۷ درجه و طولی سازی ۶۰ ثانیه در ۷۲ درجه صورت گرفته و متعاقباً طولی سازی نهایی به مدت ۷ دقیقه در ۷۲ درجه انجام گرفت. در نهایت محصولات واکنش بر روی ژل آگاروز ۳٪ مورد الکتروفورز قرار گرفته و با استفاده از SYBRGreen (ABM, Canada) مورد آنالیز قرار گرفت. اطلاعات به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS (نسخه ۲۱) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

یافته ها

یافته های جمعیتی: از میان ۱۸۸۷ مرد نابارور مبتلا به آزواسپرمی یا الیگواسپرمی شدید که در این مطالعه به لحاظ وجود ریز حذف های کروموزوم Y مورد بررسی قرار گرفتند، ۱۰۱ مرد (۵/۳٪) دارای ریز حذف های

(۲/۹٪) مشاهده گردید (نمودار ۱).

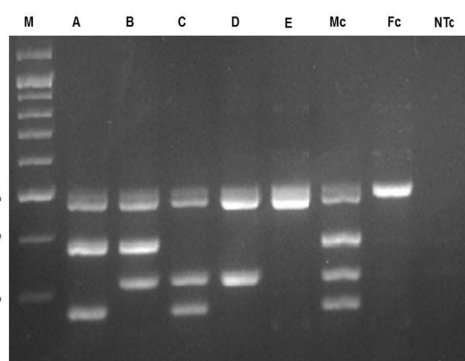
توزیع قومیتی در جمعیت مردان نابارور مورد مطالعه: به منظور برآورد پراکندگی قومی در مردان نابارور مراجعه‌کننده به پژوهشگاه رویان، ۲۰۰ نفر از مراجعه‌کنندگان طی سال‌های ۹۲-۱۳۹۱ به صورت تصادفی انتخاب و قومیت آنها بر اساس محل تولد و گویش سه نسل متوالی از افراد تعیین شد. توزیع قومیتی ۲۰۰ مورد ذکر شده در جدول ۵ و نمودار ۲ خلاصه گردید و بر همین اساس به کل جمعیت مورد مطالعه (۱۸۸۷ مرد نابارور مبتلا به آرواسپرمی یا الیگواسپرمی شدید) تعمیم گردید. در بین ۲۰۰ مورد ذکر شده ریز حذف‌های کروموزوم Y تنها در ۱۱ نفر (۵/۵٪) مشاهده شد که از میان آنها ۴ نفر فارس، ۲ نفر آذری، ۲ نفر کرد، ۲ نفر شمالی (یک نفر گیلکی و یک نفر مازندرانی) و ۱ نفر لر بود.

از میان ۱۰۱ مرد نابارور، ۹۱ مرد (۹۰٪) دارای کاریوتایپ نرمال XY46 بودند. ۱۰ بیمار باقی مانده نیز اختلالاتی را در کروموزوم Y نشان دادند که بیشتر مربوط به حذف یا موزایسم درگیر کننده این کروموزوم بوده و در نتیجه مرتبط با ریز حذف‌های نواحی AZF می‌گردید (جدول ۴).

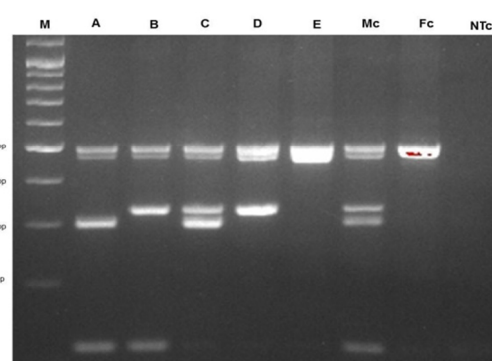
فراوانی ریز حذف‌های بازوی بلند کروموزوم Y در جمعیت مردان نابارور مورد مطالعه: نتایج الکتروفورز (شکل ۲) مربوط به ریز حذف‌های کروموزوم Y در ۱۸۸۷ مرد نابارور وجود ۱۰۱ فرد دارای این ریز حذف‌ها را مشخص کرد که از این میان بیشترین ریز حذف‌ها (۷۰ مرد) در ناحیه AZFc (۶۹/۳٪) قرار داشت. ریز حذف‌های ناحیه AZFa تنها در ۳ نفر (۲/۹٪) مشاهده شد و ریز حذف‌های ناحیه AZFb در ۷ نفر (۶/۹٪) تشخیص داده شد. ریز حذف ترکیبی AZFbc در ۱۸ نفر (۱۷/۸٪) و AZFabc نیز در ۳ نفر

جدول ۴- اختلالات کاریوتایپ تشخیص داده شده در مردان نابارور دارای ریز حذف

AZF ناحیه	کاریوتایپ
AZFbc	45,X,[7]/46,X,inv(Y)(q11.2q12)[8]
AZFbc,Par.a	46,X,der(Y)del(Y)t(Y22)(p10;p10)
AZFbc,Par.a	46X,del(Y)?
AZFbc	46,X,del(Y)(q11.2)
AZFabc	46,X,del(Y)(q11.22)
AZFbc	46,X,idic(Y)(q11.2)[9]/45,X[9]
AZFbc	46,X,idic(Y)(q11.22)[13]/45,X[2]
AZFbc	46XX,idic(Y)(q11.22)
AZFbc	46,X,idic(Y)(q11.22)[12]/45,X[3]
AZFbc	46,X,idic(Y)(q11.22)[9]/45,X[5]/46X+mar[2]

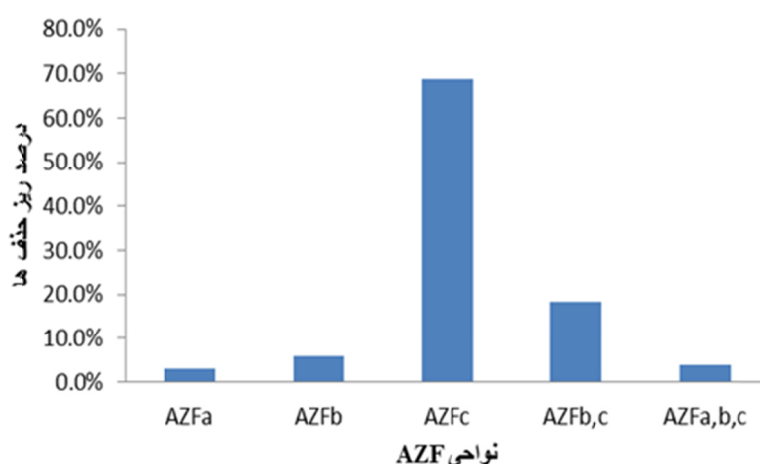


(a)



(b)

شکل ۲- نمونه ژل الکتروفورز محصول PCR چندگانه برای MixA (a) و MixB (b) - سایز مارکر 100bp و (A-E): نمونه‌های دارای ریز حذف در نواحی AZFa, AZFb, AZFc, و AZFbc، کنترل‌ها به ترتیب (Mc): Male، (Fc): Female و (NTc): Blank.



نمودار ۱- فراوانی ریز حذف های کروموزوم Y در ۱۸۸۷ مرد نابارور به تفکیک نواحی AZF

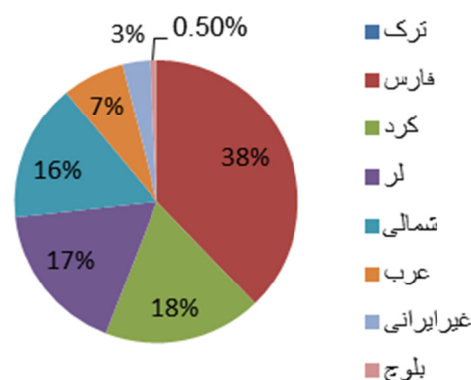
جدول ۵- پراکندگی قومیت در ۲۰۰ نفر از مراجعه کنندگان طی سال های ۹۱-۹۲

قومیت	تعداد بیماران (n=۲۰۰)	درصد بیماران (%)	تعداد تخمینی (n=۱۸۸۷)
آذربایجانی (ترک)	۷۳	۳۶/۵	۶۸۹
فارس	۴۸	۲۴	۴۵۳
کرد	۲۳	۱۱/۵	۲۱۷
لر	۲۲	۱۱	۲۰۷
شمالی (گیلکی و مازندرانی)	۲۰	۱۰	۱۸۹
عرب	۹	۴/۵	۸۵
بلوچ	۱	۰/۵	۹
غیر ایرانی (افغانی و عراقی)	۴	۲	۳۸
کل	۲۰۰	-	۱۸۸۷

دارای ریز حذف ترکیبی AZFabc و ۱ نفر نیز دارای ریز حذف در ناحیه AZFa بود. در میان فارس ها نیز ریز حذف ناحیه AZFc در ۲۲ نفر یعنی ۳/۷۳٪ و ۶ نفر نیز دارای ریز حذف ترکیبی AZFbc و دو نفر دارای ریز حذف ناحیه AZFb بودند. در میان ۱۱ نفر کُرد تبار ۹ فرد یعنی ۸۱/۱٪ آنها دارای ریز حذف ناحیه AZFc، ۱ نفر دارای ریز حذف AZFa و ۱ نفر هم دارای ریز حذف ترکیبی AZFbc بود. همه لرها، ۸۰٪ غیر ایرانی ها و ۵۰٪ شمالی ها هم دارای ریز حذف های ناحیه AZFc بودند. این نتایج به تفکیک نواحی AZF و قومیت در جدول ۷ و نمودار ۴ قابل مشاهده می باشد. نتایج آزمون کای-دو نشان داد که توزیع ریز حذف های مختلف کروموزوم Y در بین قومیت های ایرانی یکنواخت نیست ($p < 0.001$).

توزیع قومیتی در مردان نابارور دارای ریز حذف کروموزوم Y: قومیت نابارور حامل ریز حذف در این بخش از مطالعه نیز همانند بخش قبل بر اساس محل تولد و گویش سه نسل از افراد تعیین شد. در این قسمت از مطالعه به دلیل مشخص نشدن قومیت یکی از بیماران این فرد از مطالعه خارج شد. از میان ۱۰۰ مرد نابارور دارای ریز حذف کروموزوم Y، ۳۸ نفر دارای قومیت آذری (ترک)، ۳۰ نفر دارای قومیت فارس، ۱۱ نفر کُرد، ۸ نفر لر، ۶ نفر شمالی (گیلکی و مازندرانی)، ۲ نفر عرب ایرانی و ۵ نفر غیر ایرانی (عراقی و افغانی) بودند. این اطلاعات در جدول ۶ و نمودار ۳ خلاصه گردیده است.

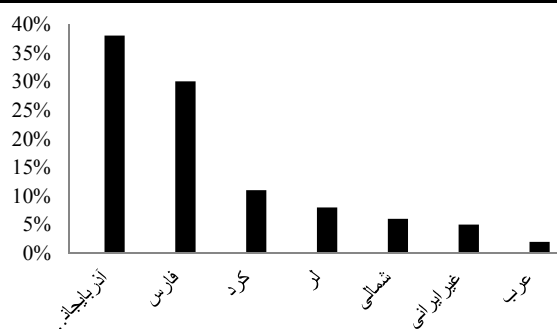
در میان ۳۸ نفر آذری ۲۴ نفر یعنی ۶۳/۱٪ دارای ریز حذف های ناحیه AZFc، ۷ نفر دارای ریز حذف ترکیبی AZFbc، ۴ نفر دارای ریز حذف ناحیه AZFb، ۲ نفر



نمودار ۲- توزیع قومیتی در مردان نابارور مراجعه کننده (سال های ۹۱-۹۲)

جدول ۶- پراکندگی قومیتی در بیماران دارای ریز حذف کروموزوم Y طی سال های ۹۱-۹۲

قومیت	بیماران دارای ریز حذف	درصد بیماران دارای ریز حذف
آذربایجانی	۳۸	۳۸٪
فارس	۳۰	۳۰٪
کرد	۱۱	۱۱٪
لر	۸	۸٪
شمالی (مازندرانی و گیلانی)	۶	۶٪
غیر ایرانی	۵	۵٪
عرب	۲	۲٪
کل	۱۰۰	۱۰۰٪



نمودار ۳- توزیع قومیتی بیماران دارای ریز حذف های کروموزوم Y

بحث و نتیجه گیری

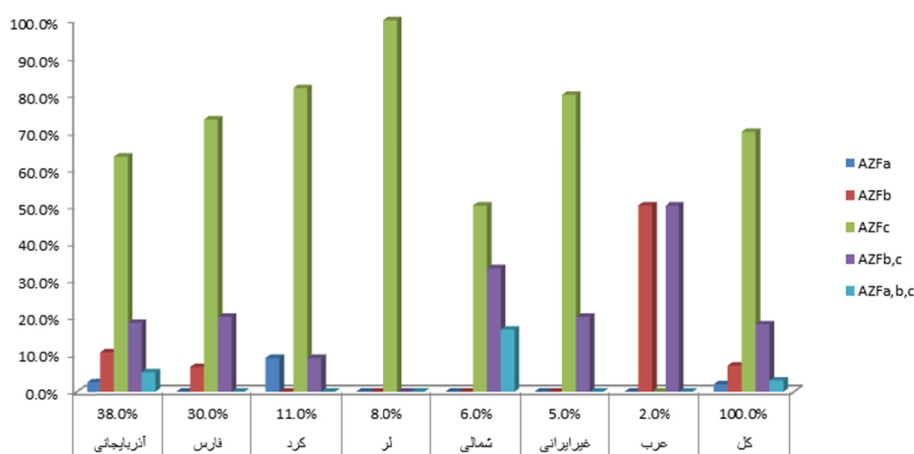
امروزه ناباروری یک مشکل بزرگ تولید مثلی به شمار می آید که ۱۵-۱۰٪ از زوج‌های جوان با آن روبرو هستند و در این میان حدود ۵۰٪ از موارد ناباروری مربوط به مشکلات مردان می باشد (۲). در مردان ناباروری اغلب با الیگواسپرمی یا آزواسپرمی همراه می شود و در عده زیادی از آنان علت ناباروری به درستی مشخص نیست بطوریکه در یک گزارش صورت گرفته توسط سازمان

بهداشت جهانی، ۱۱/۲٪ از موارد ناباروری مردان را با عنوان الیگواسپرمی با علت نامشخص گزارش شده است (۱۵).

اختلالات ژنتیک بخش عمده و مهمی از موارد ناباروری با علت نامشخص را تشکیل می دهد. بر همین اساس علت اصلی حدود ۱۵٪ از موارد ناباروری مردان و ۱۰٪ از موارد ناباروری زنان را ناهنجاری های ژنتیکی، شامل اختلالات کروموزومی و جهش های نقطه ای

جدول ۷- توزیع فراوانی ریز حذف‌های کروموزوم Y به تفکیک هر ناحیه AZF در قومیت‌های ایرانی

قومیت	AZFa		AZFb		AZFc		AZFbc		AZFabc	
	تعداد افراد دارای ریز حذف	درصد افراد دارای ریز حذف	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
آذربایجانی	۳۸	۳۸	۱	۲/۶	۴	۱۰/۵	۲۴	۶۳/۱	۷	۱۸/۴
فارس	۳۰	۳۰	-	-	۲	۶/۶	۲۲	۷۳/۳	۶	۲۰
کرد	۱۱	۱۱	۱	۹٪	-	-	۹	۸۱/۸	۱	۹
لر	۸	۸	-	-	-	-	۸	۱۰۰	-	-
شمالی	۶	۶	-	-	-	-	۳	۵۰	۳۳/۳	۱
غیرایرانی	۵	۵	-	-	-	-	۳	۸۰	۲۰	-
عرب	۲	۲	-	-	۱	۵۰	-	-	۱	۵۰
کل	۱۰۰	۵,۳	۲	۲	۷	۷	۷۰	۷۰	۱۸	۱۸



نمودار ۴- توزیع فراوانی ریز حذف‌های مختلف کروموزوم Y در قومیت‌های ایرانی

می‌یابد. امروزه روش‌های ژنتیکی در دسترس است که به کمک آنها، علت ناباروری مشخص شده و احتمال انتقال آن به‌عنوان یک صفت و مشخصه ژنتیکی در زوج تعیین می‌شود. این امر به زوج‌هایی که در خطر بالای انتقال این صفت مشخص ژنتیکی مثل هستند اجازه می‌دهد تا در هنگام انتخاب روش‌های کمک تولید مثلی تصمیمی آگاهانه بگیرند. همچنین به پزشکان اجازه می‌دهد که در هنگام مقتضی کاربرد روش‌های تشخیص پیش از تولد یا پیش از لانه‌گزینی را پیشنهاد کنند (۱۹).

در سال ۱۹۷۶ برای اولین بار Tiepolo و همکارانش پس از بررسی کاریوتایپ ۱۱۷۰ مرد نابارور، متوجه حذف بخش‌هایی از بازوی بلند کروموزوم Y در ۶ بیمار آزواسپرم شدند. علل و عوامل شناخته شده و مؤثر در ناباروری در این افراد بررسی شد و نتیجه در تمام موارد منفی بود. از آنجایی که پدر این افراد دارای کروموزوم

تشکیل می‌دهند (۱۶، ۱۷). با تحقیق بر روی دلایل ژنتیکی ناباروری زوجین در طول سال‌های گذشته، همزمان تکنیک‌های باروری در شرایط آزمایشگاه توسعه یافته و امروزه با به‌کارگیری روش‌های لقاح مصنوعی (In Vitro Fertilization) و یا تلقیح اسپرم به داخل تخمک (Intra Cytoplasmic Sperm Injection) امکان باروری برای بسیاری از آنان فراهم شده است (۱۸).

در طبیعت، فرایند انتخاب طبیعی مانع از انتقال جهش‌های عامل ناباروری به نسل بعد می‌شود، در حالی که این مکانیسم محافظ توسط تکنیک‌های کمک تولید مثلی (ART) بازداشته می‌شود؛ بنابراین به موازات توسعه این گونه روش‌های کمک باروری، توجه لازم به سلامت نسل بعد لازم و ضروری است. از آنجایی که در این روش‌ها، اسپرم‌های قاعد صلاحیت نیز توانایی لقاح و تشکیل تخم را می‌یابند، ریسک انتقال علل ژنتیکی ناباروری و سایر جهش‌های ژنتیکی به نسل بعد افزایش

جدول ۸- نتایج برخی مطالعات انجام شده در خصوص فراوانی ریز حذف‌های کروموزوم Y

مطالعه	سال	ریز حذف‌های نواحی AZF (%)	ریز حذف ناحیه AZFc (%)	جمعیت مورد مطالعه (نفر)
Ambulkaretal <i>et al.</i>	۲۰۱۴	۸/۳	۸۴/۶	۱۵۶
Sun <i>et al.</i>	۲۰۱۲	۸/۸	۷۷/۷	۵۰۷
Elahwary <i>et al.</i>	۲۰۱۰	۳۷	۱۲,۵	۴۹
Mitra <i>et al.</i>	۲۰۰۷	۵/۲	۳۳/۳	۱۷۰
Ferlin <i>et al.</i>	۲۰۰۶	۳,۲	۶۵/۷	۳۰۷۳

همکاران (۲۰۰۶) شیوع ریز حذف‌های بازوی بلند کروموزوم Y را در میان ۹۹ مرد آواسپرم ناحیه شمال غربی ایران ۲۴/۲٪ گزارش کردند (۹). همچنین ملک عسگر و همکاران نیز در سال ۲۰۰۸ فراوانی این ریز حذف‌ها را در بین ۵۰ مرد آواسپرم و الیگواسپرم از مناطق جنوب غربی ایران بسیار بیشتر از فراوانی جهانی آن و در حدود ۵۲ درصد گزارش کردند (۱۰). میر فخرایی و همکاران نیز شیوع این ریز حذف‌ها را در بین ۱۰۰ مرد نابارور دچار آواسپرمی غیر انسدادی از مناطق مختلف ایران را حدود ۱۲ درصد گزارش نمودند که در بین آنها ریز حذف‌های ناحیه AZFc بیشترین فراوانی (۶۶/۶ درصد) را داشته است (۲۳). در مطالعات انجام شده در ایران که در سال‌های اخیر صورت گرفته فراوانی این ریز حذف‌ها بین ۵ تا ۱۰ درصد گزارش شده است. توتونچی و همکاران (۲۰۱۲) فراوانی ریز حذف در بین مردان نابارور ایرانی را حدود ۵,۰۶ درصد و زعیمی و همکارانش در سال ۲۰۱۳ این فراوانی را حدود ۵٪ گزارش کردند (۲۱, ۲۲) که این مقادیر با میزان‌های به دست آمده در تحقیق حاضر تطبیق دارد. همچنین این مقادیر در توافق با بسیاری از مطالعات انجام شده در دنیا می‌باشد که فراوانی این ریز حذف‌ها را کمتر از ۱۵٪ گزارش کردند (۲۴).

در آخرین دستورالعمل منتشر شده توسط آکادمی آندروولوژی و شبکه کیفی ژنتیک مولکولی اروپا تشخیص مولکولی ریز حذف‌های کروموزوم Y، بر استفاده از ۶ مارکر STS اصلی برای تشخیص ریز حذف‌های ناحیه AZF تاکید شده (۲۴) و به نظر می‌رسد استفاده از مارکرهای زیاد و متنوع سبب ابهام در تشخیص و ایجاد اختلاف در گزارش میزان فراوانی ریز حذف‌های کروموزوم Y در بین مردان نابارور خواهد شد. به عنوان مثال عمرانی و همکاران در مطالعه خود از ۲۰ مارکر

Y کامل بودند Tiepolo و همکارانش وجود ژن‌های ضروری برای فرآیند اسپرماتوژنز را بر روی کروموزوم Y پیشنهاد کردند (۲۰). از آن زمان به بعد محققین زیادی این موضوع را مورد بررسی قرار داده و امروزه می‌دانیم که بازوی بلند کروموزوم Y دربرگیرنده ژن‌های لازم و ضروری برای فرآیند اسپرماتوژنز است و وقوع چنین حذف‌هایی سبب قطع عملکرد ژن‌ها شده و پیامد آن ناباروری فرد خواهد بود؛ بنابراین حذف‌های کوچک کروموزوم Y به عنوان یکی از دلایل ژنتیکی مهم ناباروری مردان در نظر گرفته می‌شود. بر همین اساس غربالگری افراد دارای حذف‌های کوچک بازوی بلند کروموزوم Y در خلال انجام آزمایشات تشخیصی بر روی بیماران نابارور آواسپرم غیر انسدادی و یا الیگواسپرم ضروری است. این حذف‌های کوچک که در اثر نوترکیبی درون کروموزومی بین توالی‌های تکراری همولوگ ایجاد می‌شوند (۲۱). بعد از سندروم کلاین فلتز دومین علت شایع ژنتیکی در فرآیند اسپرماتوژنز هستند که باعث ناباروری مردان می‌شوند (۲۲).

در مطالعات قبلی شیوع ریز حذف‌های کروموزوم Y در مردان نابارور بین ۱ تا ۵۵ درصد گزارش شده اما در بیشتر مطالعات میزان این فراوانی کمتر از ۱۵٪ ذکر شده است (۲۲). ریز حذف‌های ناحیه AZFc شایع‌ترین نوع ریز حذف بازوی بلند کروموزوم Y است که می‌تواند منجر به ناباروری در مردان شود (۲۱). نتایج شماری از این مطالعات در جدول ۸ مشاهده می‌گردد. مطالعه حاضر نشان می‌دهد به لحاظ میزان فراوانی کلی و توزیع انواع ریز حذف در بازوی بلند کروموزوم Y، نتایج به دست آمده با نتایج بسیاری از مطالعات قبلی در جهان تطبیق دارد. این در حالی است که در برخی از مطالعات قبلی صورت گرفته در ایران نتایج بسیار متفاوتی گزارش شده است. به عنوان مثال عمرانی و

به علت ناکافی بودن تعداد افراد دارای ریز حذف در بعضی از قومیت‌ها نمی‌توان با دقت آماری کافی معین نمود کدام ریز حذف در کدام قومیت با فراوانی بیشتری رخ می‌دهد. در این رابطه به نظر می‌رسد ریفرال بودن مرکز درمان ناباروری رویان و وجود مراکز درمان ناباروری در مراکز برخی استان‌ها بر روی ترکیب قومیتی مراجعه‌کننده تأثیرگذار بوده است. لذا پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی و تکمیلی، جهت ایجاد توزیع قومی مناسب در جمعیت مراجعه‌کننده، ضمن بالا بردن حجم نمونه (خصوصاً برای برخی از قومیت‌ها) در صورت امکان با همکاری مراکز درمان ناباروری سایر استان‌ها، از مطالعات تجمیعی در این خصوص استفاده شود تا بتوان به نتیجه قطعی‌تری در این زمینه دست یافت.

در مجموع نتایج این تحقیق به لحاظ بالینی این کاربرد را برای متخصصین ناباروری و خصوصاً آندروولوژیست‌ها خواهد داشت تا صرف‌نظر از قومیت بیمار مراجعه‌کننده، تخمین بهتری از میزان شیوع کلی و نیز ترتیبی انواع ریز حذف‌های بازوی بلند کروموزوم Y داشته و بر این اساس تصمیم‌گیری در خصوص انجام بررسی‌های مولکولی مورد نیاز را اتخاذ نمایند. بعلاوه این نتایج به لحاظ جمعیت‌شناسی و برقراری ارتباط بین یافته‌های ژنوتیپی و فنوتیپی مردان نابارور در قومیت‌های مختلف ایرانی کمک‌کننده خواهد بود.

References

1. Friel A, Houghton J A, Maher M, Smith T, Noël S, Nolan A, et al. Molecular detection of Y chromosome microdeletions: an Irish study. *Int J Androl*. 2001;24(1):31-36.
2. Foresta C, Moro E, Ferlin A. Y chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis 1. *Endocrine Rev*. 2001;22(2):226-239.
3. Mitra A, Dada R, Kumar R, Gupta NP, Kucheria K, Gupta SK. Screening for Y-chromosome microdeletions in infertile Indian males: utility of simplified multiplex PCR. *Indian J Med Res*. 2008;127(2):124-32.
4. Raicu F, Popa L, Apostol P, Cimponeriu D, Dan L, Ilinca E, Luana Dracea L, et al. Screening for microdeletions in human Y chromosome--AZF candidate genes and male infertility. *J Cell Mol Med*. 2003;7(1):43-8.
5. Vogt PH, Edelmann A, Hirschmann P, Köhler

STS استفاده کردند. آنها در مطالعه خود فراوانی این ریز حذف‌ها را ۲,۲۴٪ گزارش کردند که این مقدار بالاتر از میزان‌های ذکر شده جهانی و سایر مطالعات انجام شده در ایران است (۹). در این پژوهش برای بررسی ریز حذف‌های کروموزوم Y از ۶ مارکر STS پیشنهادی در دستورالعمل ذکر شده استفاده گردید و بر این اساس شیوع ریز حذف‌ها در بین مردان ایرانی معادل ۵,۳٪ تعیین گردید. همچنین در بین ریز حذف‌ها، AZFc شایع‌ترین بود؛ در ۱۸۸۷ مرد نابارور مراجعه‌کننده، ۱۲۴ ریز حذف در ۱۰۰ مرد یافت شد که ۹۱ ریز حذف (۷۳/۳٪) در ناحیه AZFc، ۲۸ ریز حذف (۲۲/۵٪) در ناحیه AZFb و ۵ ریز حذف (۴٪) در ناحیه AZFa تشخیص داده شد.

همان‌طور که ذکر شد اختلافات قومی و نژادی نیز می‌تواند از دیگر عوامل تأثیرگذار در میزان شیوع این ریز حذف‌ها باشند که ما این اختلافات را در مطالعه حاضر مورد بررسی قرار دادیم. چنین بررسی کاملی در خصوص قومیت‌های ایرانی قبل از این صورت نگرفته و در سایر نقاط جهان نیز بررسی‌ها به‌طور معمول با هدف مقایسه قومیت‌ها نبوده است. بررسی حاضر نشان داد ترتیب فراوانی ریز حذف‌های مختلف کروموزوم Y در قومیت‌های مختلف ایرانی مشابه می‌باشد. این بدین معنی است که در همه قومیت‌هایی که تعداد قابل توجهی از بیماران دارای ریز حذف را به خود اختصاص داده بودند (ترک، فارس و کرد)، ریز حذف‌های کروموزوم Y در ناحیه AZFc بیشترین فراوانی را داشت و پس از آن ریز حذف‌های ناحیه AZFb و AZFa به ترتیب در فراوانی بیشتر بودند. در واقع قومیت در ترتیب توزیع این ریز حذف‌ها تأثیر قابل توجهی نداشته و نتیجه معناداری در این زمینه مشاهده نگردید.

در خصوص میزان فراوانی ریز حذف‌های مختلف (فراوانی توزیع) در قومیت‌های متنوع ایرانی نیز با توجه به اینکه تعداد نمونه برخی از ریز حذف‌ها در بعضی از قومیت‌ها کمتر از میزان لازم برای بررسی آماری بود، تعداد افراد مورد مطالعه در هر قومیت تعدیل گردید. بررسی آماری این نتایج با استفاده از آزمون کای-دو نشان داد که فراوانی ریز حذف‌ها در قومیت‌ها یکنواخت نمی‌باشد ($p < 0.01$) و لذا قومیت مرد نابارور ایرانی در فراوانی توزیع این ریز حذف‌ها تأثیرگذار می‌باشد. البته

- MR. Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Hum Mol Genet.* 1996;5(7):933-43.
6. Sadeghi-Nejad H, Farrokhi F. Genetics of azoospermia: current knowledge, clinical implications, and future directions. Part II: Y chromosome microdeletions. *Urol J.* 2009;4(4):192-206.
7. Simoni M, Bakker E, Eurlings MC, Matthijs G, Moro E, Müller CR, et al. Laboratory guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions. *Int J androl.* 1999;22(5):292-299.
8. 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):1140-1142.
9. 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.
10. Malekasgar AM, Mombaini H. Screening of 'Y' chromosome microdeletions in Iranian infertile males. *J Hum Reprod Sci.* 2008;1(1):2-9.
11. 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.
12. Sargin CF, Berker-Karaüzüm S, Manguoğlu E, Erdoğan T, Karaveli S, Hakan Gülkesen K, et al. AZF microdeletions on the Y chromosome of infertile men from Turkey. in *Annales de genetique.* 2004. Elsevier.
13. Simoni M, Bakker E, Krausz C. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of y-chromosomal microdeletions. State of the art 2004. *Int J Androl.* 2004;27(4):240-249.
14. Krausz C, Hoefsloot L, Simoni M, Tüttelmann F, European Academy of Andrology; European Molecular Genetics Quality Network. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013. *Andrology.* 2014;2(1):5-19.
15. Elliott DJ, Cooke HJ. The molecular genetics of male infertility. *Bioessays.* 1997;19(9):801-809.
16. De Kretser D. Male infertility. *Lancet.* 1997;34(9054):787-790.
17. Greenhall E, Vessey M. The prevalence of subfertility: a review of the current confusion and a report of two new studies. *Obstet Gynecol Survey.* 1991;46(6):397-398.
18. Sukcharoen N, Keith J, Irvine DS, Aitken RJ. Prediction of the in-vitro fertilization (IVF) potential of human spermatozoa using sperm function tests: the effect of the delay between testing and IVF. *Hum Reprod.* 1996;11(5):1030-1034.
19. Foresta C, Ferlin A, Gianaroli L, Dallapiccola B. Guidelines for the appropriate use of genetic tests in infertile couples. *European J Hum Genet.* 2002;10(5):303-312.
20. 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):119-124.
21. Totonchi M, Mohseni Meybodi A, Borjian Boroujeni P, Sedighi Gilani M, Almadani N, Gourabi H. Clinical data for 185 infertile Iranian men with Y-chromosome microdeletion. *J Assist Reprod Genet.* 2012;29(8):847-853.
22. Zaimy MA, Kalantar SM, Sheikhha MH, Jahaninejad T, Pashaiefar H, Ghasemzadeh J, et al. The frequency of Yq microdeletion in azoospermic and oligospermic Iranian infertile men. *Iran J Reprod Med.* 2013;11(6):453-458.
23. 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.
24. Krausz C, Simoni M, Tüttelmann F, European Academy of Andrology; European Molecular Genetics Quality Network. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013. *Andrology.* 2014;2(1):5-19.