بررسی ارتباط میان ریزحذف‌های کامل کروموزوم Y و وقوع سقط مکرر در جمعیت ایرانی

هدی احمدی[1*]
رضا میرفخرایی[2]
شیوا ایرانی[1]

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۲- گروه ژنتیک پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

[*] نویسنده مسئول: تهران، میدان دانشگاه، بلوار سیمون بولیوار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه زیست‌شناسی.
تلفن: ۸-۴۴۸۶۵۱۵۴ -۰۲۱
E-mail: ahmadihoda8664@gmail.com

چکیده

دریافت: ۱۳۹۶/۰۵/۲۰ ویرایش: ۱۳۹۶/۱۰/۰۶ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۱۴ آنلاین: ۱۳۹۶/۱۰/۱۵

زمینه و هدف: سقط مکرر، نوعی ناباروری است که در آن فرد متحمل سه سقط پیاپی یا بیشتر می‌گردد. ریزحذف‌های کروموزوم Y یکی از عوامل ژنتیکی احتمالی مؤثر است که در ناحیه خاصی از کروموزوم Y موسوم به فاکتور آزواسپرمی روی می‌دهد. هدف این بررسی وجود ریزحذف‌های کامل کروموزوم Y در همسران زنان مبتلا به سقط مکرر ایدیوپاتیک میان زوج‌های ایرانی بود.

روش بررسی: در این مطالعه موردی-شاهدی، ۹۲ مرد با سابقه سقط مکرر در همسران خود و ۵۰ مرد سالم بارور به‌عنوان گروه کنترل از نظر وجود ریزحذف‌های کامل از تیر ماه ۱۳۹۲ تا مهر ۱۳۹۳ در آزمایشگاه ژنتیک پزشکی تهران و علوم و تحقیقات، ارزیابی شدند. مارکرها شامل sY84, sY86 برای ناحیه مربوط به فاکتور آزواسپرمی a، sY127, sY134 sY129 برای فاکتور آزواسپرمی b و sY254, sY255 برای فاکتور آزواسپرمی c بودند. پس از استخراج DNA از خون محیطی، روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مولتی‌پلکس (Multiplex polymerase chain reaction, MPCR) و الکتروفورز ژل آگاروز جهت بررسی وضعیت ریزحذف‌ها اعمال گردید.

یافته‌ها: در بررسی ریزحذف‌های کامل ناحیه سه گانه فاکتور آزواسپرمی بر اساس نتایج حاصل واکنش زنجیره‌ای پلیمراز که بر روی ژل الکتروفورز مشاهده گردید، تمامی باندهای مربوط به مارکرهای شاخص، مورد استفاده در کل افراد مورد مطالعه تشکیل شده بود. در واقع در تمامی نمونه‌ها شامل ۵۰ نمونه کنترل و ۹۲ نمونه بیمار، هیچگونه حذفی مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه ارتباط بین ریزحذف‌های کروموزوم Y و سقط مکرر در مردان ایرانی مشاهده نشد.

کلمات کلیدی: آزواسپرمی، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، سقط مکرر، ریزحذف‌های کروموزوم Y.

مقدمه

سقط مکرر (Recurrent pregnancy loss, RPL) به‌عنوان یک بیماری مولتی‌فاکتوریال، نوعی ناباروری محسوب می‌شود که فرد طی حاملگی دو بار یا بیشتر دچار سقط جنین شود که کمابیش پس از سومین بار، معاینات فیزیکی و آزمایشات تخصصی برای تعیین عامل آن توصیه می‌شود.[1] نقش عوامل ژنتیکی و کروموزومی متعددی مانند ناهنجاری تعدادی یا ساختاری کروموزوم‌ها در هر یک از والدین بر وقوع سقط مکرر مطالعه و ثابت شده است. افزون‌براین در سال‌های اخیر ناهنجاری‌های موجود در ژنوم اسپرم آقایان مانند ناهنجاری‌های کروموزومی، تکه‌تکه شدن کروماتین و استرس اکسیداتیو، به‌عنوان فاکتورهای مردانه نیز مورد بررسی و مطالعه قرار گرفته‌اند و پژوهشگران بسیاری بر این باورند که این مشکلات می‌توانند بر تکوین جنین اثرگذار باشند و به‌احتمال خطر سقط را افزایش

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-24]

می‌دهند.[۲و۳] یکی از این فاکتورهای مردانه احتمالی موثر بر وقوع سقط مکرر، ریزحذف‌های کروموزوم Y می‌باشد. بر اساس گزارشاتی امکان ارتباط بالقوه این فاکتور با پدیده سقط مکرر می‌تواند وجود داشته باشد.[۴-۷] از آن‌جایی‌که رابطه بین ریزحذف‌های کروموزوم Y و ناباروری ثابت شده است، بنابراین به‌عنوان یک دلیل احتمالی برای وقوع سقط مکرر نیز قابل تامل است.[۸] لیکن با توجه به گزارشات ضد و نقیض و مقالات منتشر شده در این باب هنوز نتیجه قطعی در مورد وجود یا عدم همراهی ریزحذف‌های کروموزوم Y و سقط مکرر ارایه نشده است، بنابراین ضرورت پژوهش و بررسی در این زمینه هنوز احساس می‌شود.

مطالعه حاضر با هدف بررسی وجود حذف در نواحی AZFb, AZFa, AZFc در کروموزوم Y مردان با سابقه سقط مکرر ایدیوپاتیک در همسرانشان و همچنین بررسی ارتباط بین این دو فاکتور، انجام گردید.

روش بررسی

این مطالعه موردی-شاهدی در تیرماه ۱۳۹۲ تا شهریور ۱۳۹۳ در آزمایشگاه ژنتیک پزشکی تهران و آزمایشگاه ژنتیک دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تهران صورت گرفت. نمونه‌های مورد آزمایش شامل خون محیطی ۹۲ مرد به‌ظاهر سالم نورمواسپرمیک با سابقه دو سقط پیاپی یا بیشتر در همسرانشان و همچنین ۵۰ مرد نرمال بارور فاقد سابقه سقط مکرر در همسرانشان که حداقل یک فرزند داشتند بود.

پیش‌تر بر روی زنان بیماران برای اطمینان از ابتلا به سقط مکرر ایدیوپاتیک (با دلایل ناشناخته) تست‌های مربوط به‌عوامل شناخته شده سقط مکرر مثل اولتراسونوگرافی یا هیستروسالپنگوگرافی جهت بررسی ناهنجاری‌های آناتومیکی، بررسی ناهنجاری‌های هماتولوژی، ایمونولوژی، هورمونی انجام گرفته بود که همه افراد مورد بررسی از نقطه‌نظر موارد یاد شده طبیعی بودند. همچنین زنان و مردان مورد مطالعه دارای کاریوتایپ طبیعی بودند. اسپرموگرام مردان مورد مطالعه همگی از نظر میزان، قدرت حرکت و شکل اسپرم نرمال بود. در نهایت نمونه‌های بیماران و افراد داوطلب نرمال توسط کادر پزشکی پس از کسب رضایت بیماران، در آزمایشگاه ژنتیک پزشکی تهران طی سال‌های ۹۲ و ۹۳ جمع‌آوری و در دسترس قرار گرفت. از هر فرد ۵ ml نمونه خون محیطی در فالکن حاوی EDTA با غلظت ۲۰ mmol گرفته شد. DNA ژنومی از لنفوسیت‌های خون محیطی این افراد با استفاده از کیت تجاری Roche جداسازی گردید. در این پژوهش برای بررسی حذف‌های کامل نواحی سه گانه AZF از روش Multiplex polymerase chain reaction (MPCR) بهره برده شد. این روش یک روش استاندارد طلایی برای تشخیص ریزحذفی‌های کروموزوم Y در آزمایشگاه می‌باشد. در این روش می‌توان همزمان چند جفت پرایمر اختصاصی در یک واکنش استفاده کرد و در نتیجه بیش از یک توالی را تکثیر نمود. در این پژوهش نیز به دلیل تعدد پرایمرها و صرفه‌جویی در زمان از این روش استفاده شد. پرایمرها شامل شش جفت پرایمر اختصاصی (دو مارکر STS به ازای هر ناحیه AZFa, b, c) بودند که بر اساس دستورکار European Academy of Andrology (EAA) and the European Molecular Genetics Quality Network (EMQN) انتخاب شدند.[۱۰و۱۱] همچنین پرایمری مربوط به ناحیه AZFb به نام sY129 که در سال‌های پیش مورد استفاده قرار گرفته و بر اساس آن ریز حذفی را در کروموزوم Y گزارش کردند نیز در این پروسه پژوهشی گنجانده شد.[۴-۶] توالی این پرایمرها همگی توسط GeneRunner, version 3.05 (Hastings Software, Hudson, NY; http://www.generunner.com) و پایگاه NCBI Primer-Blast Tool (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/) کنترل شده و جهت سنتز به شرکت ماکروژن کره سفارش داده شد. پرایمر sY14 در ژن SRY و همچنین پرایمر ZFY نیز به‌عنوان کنترل داخلی جهت اطمینان از درستی روش PCR و عدم آلودگی طی پروسه PCR در هر واکنش قرار گرفت. توالی پرایمرهای انتخابی، طول و منطقه آن‌ها در جدول مشخص شده است (جدول ۱-۱).

بر اساس دستورکار EAA/EMQN مجموعه پرایمرهای نشان داده شده در جدول ۱-۱ قادر به شناسایی کمابیش تمامی حذف‌های آشکار از نظر کلینیکی و نیز بیش از ۹۵٪ حذف‌های گزارش شده در سایر مقالات خواهند بود و برای تشخیص آزمایشگاهی متداول نیز کافی است. طی ارزیابی ریزحذف‌های AZFa (sY84, sY86)، AZFb (sY127, sY134)، AZFc (sY254, sY255) دو واکنش Multiplex PCR A, B (MPCR A, B) انجام گرفت. برنامه MPCR A شامل دمای دناتوراسیون اولیه ۹۴ °C به مدت پنج دقیقه، ۳۰ سیکل تکثیر

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-24]

شامل دمای دناتوراسیون $94^{\circ}C$، دمای جفت شدن $58^{\circ}C$ و دمای طویل شدن $72^{\circ}C$ هر یک به مدت یک دقیقه و در نهایت دناتوراسیون نهایی به مدت پنج دقیقه با دمای $72^{\circ}C$ بود. شرایط MPCR B نیز به‌طور کامل مشابه بود. پرایمرهای (مارکر) استفاده شده در MPCR A شامل چهار جفت پرایمر SRY, sY86, sY127, sY254 بود درحالی‌که MPCR B شامل پرایمرهای ZFY, sY84, sY134 sY255 بود. با توجه به تعداد جفت بازها و عدم هم‌پوشانی باندها پرایمر sY129 را نیز در MPCR B قرار دادیم (جدول ۲-۱).

هر واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ ml شامل ۱۰ ml Taq DNA Polymerase 2× Master Mix RED (Ampliqon-Biomol, Hamburg, Germany){حاوی 0.2 unit/ml Amplicon Taq DNA polymerase, Tris HCL pH8.5, (NH4)2SO4, 3mM MgCl2, 0.4 MmdNTP} 0.5 ml از هر پرایمر، ۲ ml (۱۰۰ng) DNA الگو و در نهایت آب مقطر استریل که برای هر واکنش MPCR A, B محاسبه شد، صورت گرفت. در تمامی ریکشن‌های MPCR نمونه DNA مرد سالم بارور به‌عنوان کنترل مثبت و آب (بدون حضور هیچ نمونه DNA) به‌عنوان کنترل منفی منظور شد. نتایج حاصل از انجام MPCR A, B برای نمونه‌های نرمال و هم بیمار نیز پس از انتقال محصولات حاصل به ژل آگاروز ۲/۵٪ به مدت یک ساعت، با ولتاژ ۱۲۰ ولت با استفاده از رنگ گرین ویور (Green viewer) در دستگاه Gel Doc 2000™ Documentation System (Bio-Rad laboratories, Hercules, California, USA) مشاهده و بررسی گردید.

همانگونه که در جدول مشخص است پرایمرهای استفاده شده در واکنش MPCR A شامل sY127, sY86, sY254 و پرایمر مربوط به ژن SRY می‌باشد درحالی‌که واکنش MPCR B شامل پرایمرهای sY134, sY84, sY255, sY129 و پرایمر مربوط به ژن ZFY می‌باشد.

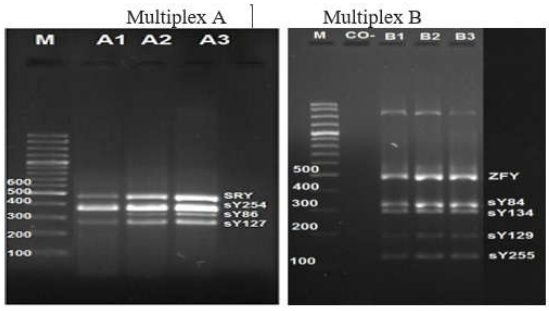
یافته‌ها

محدوده سنی مردان در این مطالعه بین ۲۱ تا ۴۵ سال (۵/۸۷±۳۲/۳۲) بود. نمونه‌های مبتلا به سقط مکرر دارای سابقه دو تا هشت سقط مکرر (۰/۹۴±۲/۵۷) در همسرانشان بودند، درحالی‌که نمونه‌های نرمال بارور فاقد سابقه سقط مکرر و حداقل دارای یک فرزند بودند. در بررسی ریزحذف‌های کامل ناحیه سه گانه AZF هیچگونه حذفی در گروه بارور و گروه مبتلا به سقط مکرر مشاهده نشد. طی الکتروفورز محصولات بر روی ژل ۲/۵٪، در تمامی مردان سالم و بیمار همه باندهای مربوط به نواحی سه گانه AZFa, AZFb, AZFc تشکیل شده بود. (شکل ۱-۱).

جهت آنالیز آماری داده‌ها آزمون Fisher exact test و Pearson's chi-square با مقادیر P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد، اما از آن‌جایی‌که فراوانی ریزحذف‌ها در هر دو گروه بیمار و کنترل برابر صفر بود نیازی به آنالیز آماری جهت مقایسه دو گروه وجود نداشت. در کل با توجه به نتایج حاصل بین ریزحذف‌های کامل کروموزوم Y و عارضه سقط مکرر همراهی وجود ندارد.

بحث

در مطالعه حاضر در مقایسه با گزارشات با نتایج مثبت درباره‌ی ارتباط بین ریزحذف‌های کروموزوم Y و وقوع سقط مکرر مانند مطالعات Dewan، Karaer، Soleimanian و Said، تعداد بیماران بیشتری (۹۲ فرد) استفاده شده است.[۴-۷] لازم به یادآوری است جهت پی بردن به نقش دقیق این ریزحذفی و تاثیر آن بر RPL، تنها بیماران دارای اسپـرم نـرمـال (آنالیز مایع سمینال بر اساس دستورکار سازمان



شکل ۱: باندهای مربوط به محصولات Multiplex PCR A, B برای چند نمونه نرمال بارور و بیمار

شکل ۱ نتایج حاصل از الکتروفورز چند نمونه از محصولات MPCR A, B را روی ژل ۲/۵٪ نشان می‌دهد. M ستون مارکر 100bp است. A1, A2, B1, B2 باندهای محصولات MPCR A, B مربوط به نمونه DNA مردان بیمار با سابقه سقط مکرر در همسرانشان می‌باشد. A3 و B3 باندهای محصولات MPCR A, B مربوط به یک نمونه DNA مرد بارور نرمال است. CO- کنترل منفی (آب) می‌باشد.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-24]

جدول ۱: توالی پرایمرهای انتخابی مربوط به ریزحذف‌های کامل

پرایمر (STS)	منطقه	طول محصول (bp)	توالی پرایمر
sY86	AZFa	320bp	F:5′-GTGACACACAGACTATGCTTC-3′ R:5′-ACACACAGAGGGACAACCCT-3′
sY84	AZFa	326bp	F:5′-AGAAGGGTCTGAAAGCAGGT-3′ R:5′-GCCTACTACCTGGAGGCTTC-3′
sY127	AZFb	274bp	F:5′-GGCTCACAAACGAAAAGAAA-3′ R:5′-CTGCAGGCAGTAATAAGGGA-3′
sY134	AZFb	301bp	F:5′-GTCTGCCTCACCATAAAACG-3′ R:5′-ACCACTGCCAAAACTTTCAA-3′
sY129	AZFb	195bp	F:5′-AGCTTCAGGAGGTTCAAAAC-3′ R:5′-AAGTGGGACCTAAGCTACGA-3′
sY254	AZFc	400bp	F:5′-GGGTGTTACCAGAAGGCAAA-3′ R:5′-GAACCGTATCTACCAAAGCAGC-3′
sY255	AZFc	126bp	F:5′-GTTACAGGATTCGGCGTGAT-3′ R:5′-CTCGTCATGAGCAGCCAC-3′
ZFY		495bp	F:5′-ACCRTCGTACTGACTGTGATTACAC-3′ R:5′-GCACYTCTTTGGTATCYGAGAAAGT-3′
SRY	Yp	472bp	F:5′-GAATATTCCCGCTCTCCGGA-3′ R:5′-GCTGGTGCTCCATTCTTGAG-3′

AZF: Azoospermia factor, ZFY: Zinc finger protein, Y linked, SRY: Sex determining region Y, Yp: Y بازوی کوتاه کروموزوم

جدول ۲: دسته‌بندی پرایمرها در مولتی پلکس پی‌سی‌ار A و B

پرایمرها	واکنش
sY127, sY86, sY254, SRY	مولتی‌پلکس A
sY134, sY84, sY255, sY129, ZFY	مولتی‌پلکس B

بهداشت جهانی پیش‌تر انجام گرفته بود) تحت آزمون قرار گرفتند. همچنین تمامی تست‌های لازم جهت بررسی عوامل مؤثر بر وقوع سقط مکرر برای اطمینان از ایدیوپاتیک بودن RPL انجام گرفته بود. در بررسی ریزحذف‌های کامل ناحیه AZF(a, b, c) بر اساس دستورکار EAA/EMQN، مارکرها و STSهای پیشنهادی این مؤسسه مورد ارزیابی قرار گرفت که ۹۵٪ کل حذف‌ها را پوشش می‌دهد و در نتیجه احتمال از دست دادن حذف رخداده در AZF بسیار پایین است.[۱۰و۱۱] این STSها شامل sY84, sY86 برای AZFa، sY127, sY134 برای AZFb، sY254, sY255 برای AZFc هستند. با در نظر گرفتن نتایج مثبت Dewan، Karaer و Soleimanian در رابطه با گزارش ریزحذفی در یک مارکر غیر پلی‌مورفیک مربوط به AZFb به نام DYS220(sY129)، این STS نیز از نظر وجود حذف احتمالی در بیماران مورد بررسی قرار گرفت.[۶-۴] افزون‌بر غیر پلی‌مورفیک بودن، دلیل دیگر انتخاب و بررسی این مارکر در نمونه‌ها، عدم بررسی آن در جمعیت ایرانی توسط Ghorbian و همکاران بود.[۱۶] درحالی‌که ایشان عدم همراهی YCM و RPL را گزارش کردند (با استفاده از مارکرهای پیشنهادی EAA/EMQN و دو مارکر پلی‌مورف مربوط به ناحیه AZFc که Dewan در آن ریزحذفی مشاهده کرده بود)، Soleimanian با گزارش ۱۳/۳٪ حذف در همین STS(sY129) همراهی بین YCM و RPL را تایید کرد.[۶] در کل در این مطالعه در ۹۲ بیمار RPL و ۵۰ نمونه کنترل که از نظر ریزحذفی کروموزوم Y در نواحی سه گانه آنالیز شدند، هیچ حذفی مشاهده نگردید که این نتیجه با بیشتر مقالات منتشر شده همخوانی دارد.[۲و۳و۱۷-۱۴] وجود اختلاف بین یافته‌های یادشده و گزارش نتایج مثبت Dewan و Karaer و Soleimanian و Said بر خلاف سایر مقالات کار شده پیرامون این موضوع، می‌تواند دلایل متعددی داشته باشد مانند استفاده نکردن از STSهای پیشنهادی EAA/EMQN، چراکه همانطور که گفته شده است برای اطمینان از نتایج، همچنین پوشش‌دهی ۹۵٪ حذف‌ها استفاده از این STS ها لازم است. در گزارش Dewan و Karaer و Soleimanian و Said این اصل رعایت نشده است، در صورتی‌که در

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-24]

سایر بررسی‌ها که عدم همراهی را گزارش کردند، همگی STSهای استاندارد EAA/EMQN را در دستور کار خود داشتند.[۲و۳و۱۷-۱٤] حتی برخی از این مطالعات برای دستیابی به نتایج خود از تعداد بسیار بیشتری STS استفاده کرده بودند یا مضاف بر آن STSهایی که پیش‌تر حذف در آن‌ها گزارش شده بود را نیز دوباره مورد آزمون قرار دادند.[۲و۳و۱۵] علت دیگر می‌تواند حجم کم نمونه‌های مورد بررسی در برخی مطالعات باشد که به لحاظ آماری از ارزش نتایج کم می‌کند. برای نمونه Dewan تنها بر روی ۱۷ نمونه RPL، Soleimanian و Bellver بر روی ۳۰ نمونه RPL و Said بر روی ٤۰ نمونه RPL کار کردند.[۲و٤و٦و۷] یکی از عواملی که می‌تواند بر درستی نتایج اثرگذار باشد، انتخاب نمونه‌ها مطابق معیارهای درست می‌باشد که در برخی از مطالعات رعایت نشده است. در میان زنان دچار سقط مکرر در بررسی Karaer و همکاران آن‌چنان‌که بیان کرده است افراد مبتلا به ناهنجاری‌های آناتومیکی رحم، ترومبوفیلی، هورمونی، ایمونولوژیکی نیز به چشم می‌خورد و تنها ۱۳ نفر از کل ٤۳ نمونه دچار RPL ایدیوپاتیک بودند. افزون‌براین از بین هفت مرد که وجود ریزحذفی در آن‌ها گزارش شده بود سه نفرشان دارای همسرانی با اختلالات آناتومیکی رحم بودند که این موضوع، نتایج نهایی و فراوانی ریزحذف‌های اعلام شده در گزارش او را تحت تاثیر قرار می‌دهد.[۵] در گزارشات Said و همکاران نیز انجام کاریوتایپ برای زوجین آورده نشده است.[۷]

فاکتور دیگری که می‌تواند به کسب نتیجه بهتر کمک کند آنالیز مایع سمینال در نمونه‌های مورد بررسی می‌باشد. چرا که به‌طور طبیعی YCM با آزواسپرمی و یا الیگواسپرمی شدید مرتبط است.[۲۰] بنابراین آگاهی از وضعیت اسپرم در فرد مورد مطالعه در قضاوت و نتیجه‌گیری حاصل می‌تواند مؤثر باشد. آنالیز مایع سمینال در مورد برخی از مطالعات گذشته در دسترس نیست.[۳و٤و۱٦و۱۷]

در این مطالعه بر خلاف مطالعه‌ای که توسط Gorbian و همکارانش بر روی تعدادی از جمعیت ایرانی انجام گرفت، آنالیز مایع سمینال برای تمامی نمونه‌ها انجام شد و افراد نرمواسپرمیک تحت آزمون و بررسی قرار گرفتند.[۱٦] مطالعات دیگری نیز نمونه‌هایی با اختلال در مایع سمینال را جهت بررسی ارتباط میان YCM و RPL ارزیابی کردند که البته بهتر بود نمونه‌ها نورمواسپرمیک بودند، با این حال در نتایج Pina-Aguilar و همکاران با وجود اختلال در اسپرموگرام نمونه‌ها ریزحذفی مشاهده نشد درحالی‌که در نتایج Soleimanian و همکاران که نمونه‌ها همگی نرمواسپرمیک بودند، ریزحذفی مشاهده شده ارتباط معناداری با سقط مکرر داشت.[٦و۱۵] یکی از STSهای مورد بررسی Dewan sY67(DYS262) بود که موقعیت این مارکر اصلا نزدیک نواحی مدنظر یعنی AZF نمی‌باشد و واقع بر بازوی کوتاه (Yp) است. بنابراین حذف اعلام شده در این منطقه، در مورد موضوع مورد مطالعه نمی‌تواند زیاد آگاهی دهنده باشد. به نظر می‌رسد گزارش ریزحذفی در این ناحیه و چند ناحیه دیگر در AZF نشان‌دهنده چندین ناحیه حذف شده بر روی کروموزوم Y است که در بین مردان نرمال بسیار نامحتمل است. در گزارش Dewan اشاره به دو مارکر sY150 وsY152 شده است. Karaer افزون‌بر این دو، از مارکر sY153 نیز نام برده است و بیان کرده‌اند که همگی متعلق به AZFd هستند، البته هیچ توافق عمومی و مدرکی برای وجود این منطقه وجود ندارد.[٤و۵و۱۰] بنابراین این مارکرها به AZFc ارجاع داده می‌شوند. افزون‌براین مارکرها پلی‌مورف بوده و احتمال این‌که ریزحذف‌های گزارش شده ناشی از یک خطای متدلوژیک باشند، وجود دارد. Soleimanian نیز از مارکرهای مورد استفاده Dewan استفاده کرده است که همان محدودیت‌ها را شامل می شوند، چهار مارکر دیگر منتخب او نیز به دلیل پلی‌مورف بودن از نظر وجود حذف به‌طور قطعی قابل استناد نیستند. تمام این موارد می‌توانند باعث اختلاف در نتایج مطالعات مختلف شوند.[٦]

باوجود همه این تفاوت‌ها و اختلاف روش‌ها، نکته‌ای وجود دارد که باید به آن اشاره کرد آن هم وجود ناهنجاری‌های کروموزومی در اسپرم می‌باشد. کاریوتایپ نرمال در لنفوسیت دلیل بر نبود ناهنجاری در کروموزوم اسپرم نمی‌شود. میزان زیادی از آنومالی‌های کروموزومی اسپرم در بیماران مرد با سابقه سقط مکرر در همسران خود، که دارای کاریوتایپ نرمال در لنفوسیت خود هستند، دیده شده است.[۲۱و۲۲]

در تمام این گزارشات و حتی این مطالعه، DNA مورد بررسی از نمونه خون محیطی بیماران استخراج شده است. این احتمال وجود دارد که آنومالی که منجر به RPL شده است ناشی از رخداد یک جهش Denovo طی اسپرماتوژنز در اسپرماتوزویید باشد. در کل پیشنهاد می‌شود برای اثبات وجود یا نبود همراهی بین ریزحذف‌های کروموزوم Y و سقط مکرر و بهبود کیفیت نتایج در این رابطه

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-24]

مطالعات گسترده تری بر روی یک جامعه آماری وسیع با حجم نمونه بیشتر متشکل از قومیت‌های مختلف در ایران انجام شود. در این صورت اختلاف فراوانی در قومیت‌های گوناگون همزمان قابل بررسی می‌باشد. به‌نظر می‌رسد اگر نمونه‌های DNA هم از خون و هم از اسپرم افراد تهیه شود می‌تواند بسیاری از جنبه‌های نامشخص و مبهم را طی آزمایش روشن سازد. چراکه به‌دلیل میوز، میزان جهش در DNA اسپرم بیشتر بوده و در پی آن احتمال وجود حذف نیز بیشتر است.

با تمام این تفاسیر ارزیابی ریزحذف‌های کامل کروموزوم Y در شوهران زنان مبتلا به سقط مکرر توصیه نمی‌شود. در نهایت با توجه به نتایج مطالعه حاضر بین ریـزحذف‌های کامل کروموزوم Y و سقط مکرر ارتباطی وجود ندارد و عدم همراهی گزارش می‌شود.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل پایان‌نامه تحت عنوان "بررسی ارتباط میان ریزحذف‌های کامل کروموزوم Y و وقوع سقط مکرر در جعیت ایرانی" در مقطع کارشناسی ارشد در سال ۱۳۹۳ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم و تحقیقات تهران اجرا شده است. بدین‌وسیله از مسئولین محترم دانشکده علوم پایه دانشگاه علوم و تحقیقات تهران و مسئولین بخش آزمایشگاه ژنتیک این دانشگاه جهت در اختیار قرار دادن تجهیزات آزمایشگاهی و همراهی ایشان جهت انجام تحقیق کمال تشکر و سپاسگزاری به عمل آورده می‌شود. ضمنا از همکاری پرسنل محترم آزمایشگاه ژنتیک پزشکی تهران به‌دلیل همکاری صمیمانه طی مراحل مطالعه قدردانی می‌گردد.

References

1. Jauniaux E, Farquharson RG, Christiansen OB, Exalto N. Evidence-based guidelines for the investigation and medical treatment of recurrent miscarriage. *Hum Reprod* 2006;21(9):2216-22.
2. Bellver J, Meseguer M, Muriel L, García-Herrero S, Barreto MA, Garda AL, et al. Y chromosome microdeletions, sperm DNA fragmentation and sperm oxidative stress as causes of recurrent spontaneous abortion of unknown etiology. *Hum Reprod* 2010;25(7):1713-21.
3. Kaare M, Painter JN, Ulander VM, Kaaja R, Aittomäki K. Sex chromosome characteristics and recurrent miscarriage. *Fertil Steril* 2008;90(6):2328-33.
4. Dewan S, Puscheck EE, Coulam CB, Wilcox AJ, Jeyendran RS. Y-chromosome microdeletions and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 2006;85(2):441-5.
5. Karaer A, Karaer K, Ozaksit G, Ceylaner S, Percin EF. Y chromosome azoospermia factor region microdeletions and recurrent pregnancy loss. *Am J Obstet Gynecol* 2008;199(6):662.e1-5.
6. Soleimanian S, Kalantar SM, Sheikhha MH, Zaimy MA, Rasti A, Fazli H. Association between Y-chromosome AZFc region micro-deletions with recurrent miscarriage. *Iran J Reprod Med* 2013;11(5):431-4.
7. Said MM, Fahmi AA, Hemeda HM, Aly B, Abdel Al RH, Nasr SM, et al. Detection of Y chromosome microdeletions in recurrent abortions among Egyptian females using SYBR Green Real Time PCR. *J Am Sci* 2013;9(9):150-6.
8. 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.
9. Tilford CA, Kuroda-Kawaguchi T, Skaletsky H, Rozen S, Brown LG, Rosenberg M, et al. A physical map of the human Y chromosome. *Nature* 2001;409(6822):943-5.
10. 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):240-9.
11. 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.
12. Puscheck EE, Jeyendran RS. The impact of male factor on recurrent pregnancy loss. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2007;19(3):222-8.
13. Li TC, Makris M, Tomsu M, Tuckerman E, Laird S. Recurrent miscarriage: aetiology, management and prognosis. *Hum Reprod Update* 2002;8(5):463-81.
14. Wettasinghe TK, Jayasekara RW, Dissanayake VH. Y chromosome microdeletions are not associated with spontaneous recurrent pregnancy loss in a Sinhalese population in Sri Lanka. *Hum Reprod* 2010;25(12):3152-6.
15. Piña-Aguilar RE, Martínez-Garza SG, Kohls G, Vargas-Maciel MA, Vázquez de Lara LG, González-Ortega C, et al. Y chromosome microdeletions in Mexican males of couples with idiopathic recurrent pregnancy loss. *J Obstet Gynaecol Res* 2012;38(6):912-7.
16. Ghorbian S, Saliminejad K, Sadeghi MR, et al. The association between Y chromosome microdeletion and recurrent pregnancy loss. *Iran Red Crescent Med J* 2012;14(6):358-62.
17. Pereza N, Črnjar K, Buretić-Tomljanović A, Volk M, Kapović M, Peterlin B, et al. Y chromosome azoospermia factor region microdeletions are not associated with idiopathic recurrent spontaneous abortion in a Slovenian population: association study and literature review. *Fertil Steril* 2013;99(6):1663-7.
18. Perrin J, Metzler-Guillemain C, Karsenty G, Grillo JM, Mitchell MJ, Guichaoua MR. Meiotic arrest at the midpachytene stage in a patient with complete azoospermia factor b deletion of the Y chromosome. *Fertil Steril* 2006;85(2):494.e5-8.
19. Geoffroy-Siraudin C1, Aknin-Seiffer I, Metzler-Guillemain C, Ghalamoun-Slaimi R, Bonzi MF, Levy R, et al. Meiotic abnormalities in patients bearing complete AZFc deletion of Y chromosome. *Hum Reprod* 2007;22(6):1567-72.
20. Chandley AC. Chromosome anomalies and Y chromosome microdeletions as causal factors in male infertility. *Hum Reprod* 1998;13 Suppl 1:45-50.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-24]

21. Rubio C, Simón C, Blanco J, Vidal F, Mínguez Y, Egozcue J, et al. Implications of sperm chromosome abnormalities in recurrent miscarriage. *J Assist Reprod Genet* 1999;16(5):253-8.

22. Al-Hassan S, Hellani A, Al-Shahrani A, Al-Deery M, Jaroudi K, Coskun S. Sperm chromosomal abnormalities in patients with unexplained recurrent abortions. *Arch Androl* 2005;51(1):69-76.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-24]

TUMJ Tehran University Medical Journal, January 2018; Vol. 75, No. 10: 730-737 Original Article

The relation between Y chromosome microdeletions and recurrent pregnancy loss

Hoda Ahmadi M.Sc.[1*]
Reza Mirfakhraie Ph.D.[2]
Shiva Irani Ph.D.[1]

1- Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2- Department of Medical Genetics, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

[*]Corresponding author: Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Daneshgah Sq., Simon Bolivar Blvd., Tehran, Iran.
Tel: +98- 21- 44865154-8
E-mail: ahmadihoda8664@gmail.com

Abstract

Received: 11 Aug. 2017 Revised: 27 Dec. 2017 Accepted: 04 Jan. 2018 Available online: 05 Jan. 2018

Background: Recurrent pregnancy loss is a form of infertility with at least three consecutive pregnancy losses or more. Y chromosome microdeletions are a class of most likely genetic factors that occur in a special zone of Y chromosome which is named azoospermia factor region. The purpose of this study was to analyze the presence of Y chromosome complete microdeletions in male partner of couples suffering from idiopathic recurrent pregnancy loss among Iranian population.

Methods: In the present study, Y chromosome microdeletions were evaluated in ninety-two male partners of couples with the experience of recurrent pregnancy loss as the patient group and also a group containing fifty fertile males as the control group. The research has done in Medical Genetic laboratory of Tehran and Islamic Azad University Science and Research Branch, Tehran, Iran within June 2013 to September 2014. The selected sequence tagged site markers (primers) including sY84, sY86, for azoospermia factor a; sY127, sY134, sY129, for azoospermia factor b and sY254, sY255, for azoospermia factor c were used to screen complete microdeletions in Y chromosome. At the first step DNA samples were extracted from all men's peripheral blood in both patient and control groups and then multiplex polymerase chain reaction and also agarose gel electrophoresis were performed on this DNA samples so as to detect deletions.

Results: With due attention to the data resulted from multiplex polymerase chain reaction and agarose gel electrophoresis in order to recognize Y chromosome micro deletions in azoospermia factor region, in this work, all the bands related to the mentioned primers which were formed during the polymerase chain reaction, were detected on the gel obviously. It means that none of the samples neither the fifty fertile men nor the ninety-two patient men had complete micro deletions in their Y chromosome.

Conclusion: This study suggests that there is no correlation between Y chromosome micro deletions and occurrence of recurrent pregnancy loss in Iranian population.

Keywords: azoospermia, polymerase chain reaction, recurrent pregnancy loss, Y chromosome microdeletions.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-24]