

Analysis of Y Chromosome Microdeletions and Mutation in Exon7 of the *STAG3* Gene in Iranian Infertile Men with Idiopathic Non-Obstructive Azoospermia

Sara Pouriamanesh¹, Ziba Kamalian¹, Pedram Shafaat², Mona Amin Bidokhti¹, Nasser Salsabili³, Reza Mirfakhraei^{4*}

1- MSc, Department of Medical Genetics, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

2- MSc, Department of Anatomy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

3- Professor, Department of Gynecology, Mirza Koochakhan Hospital, Tehran, Iran.

4- Assistant Professor, Department of Medical Genetics, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Received: 23 April 2016, Accepted: 15 Jun 2016

Abstract

Background: Azoospermia is defined as the absence of sperm in the semen and is divided in two types; obstructive and non-obstructive azoospermia. Non-obstructive azoospermia include approximately 60% of azoospermia patients. Several genetic and environmental factors can be involved in the development of non-obstructive azoospermia. Until now, several genes have been introduced as the causing factor of the azoospermia that are involved in spermatogenesis and testicular development. These genes are located on Y and/or autosome chromosomes. The aim of the present study was to investigate Y chromosome microdeletions and *STAG3* gene mutations in Iranian males with non-obstructive azoospermia.

Materials and Methods: In this study, peripheral blood samples were obtained from 122 men with idiopathic non-obstructive azoospermia and 100 Normo-sperm men who had at least one child and DNA was extracted. Samples were investigated for the presence of Y chromosome microdeletions by Multiplex PCR. Then, existence of probable mutations in exon 7 of *STAG3* gene was investigated using MSSCP (multi-temperature single-strand conformational polymorphism) method.

Results: 13 patients (10.66%) had Y chromosome microdeletions, but none of the subjects showed mutation in exon 7 of *STAG3* gene. The Y chromosome microdeletions were found in none of the control individuals.

Conclusion: The results showed that Y chromosome microdeletions are the most important cause of non-obstructive azoospermia and should be considered as the main candidate for male infertility diagnostic tests. Mutations in the *STAG3* gene are not common among non-obstructive azoospermia patients.

Keywords: Microdeletion, Y Chromosome, Azoospermia, Mutation, *STAG3*.

*Corresponding Author:

Address: Department of Medical Genetics, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Email: reza_mirfakhraie@yahoo.com

بررسی ریزحذف‌های کروموزوم Y و جهش در اگزون ۷ ژن STAG3 در مردان نابارور ایرانی مبتلا به آزواسپرمی غیرانسدادی ایدیوپاتیک

سارا پوریامنش^۱، زیبا کمالیان^۱، پدرام شفاعت^۲، مونا امین بیدختی^۱، ناصر سلسبیلی^۳، رضا میرفخرایی^{۴*}

۱- کارشناسی ارشد، گروه ژنتیک پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهیدبهشتی، تهران، ایران.

۲- کارشناسی ارشد، گروه آناتومی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۳- استادیار، گروه زنان، بیمارستان میرزا کوچک خان، تهران، ایران.

۴- استادیار، گروه ژنتیک پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهیدبهشتی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۴ تاریخ پذیرش: ۹۵/۳/۲۶

چکیده

زمینه و هدف: آزواسپرمی به معنی عدم اسپرم در انزال می‌باشد که به دو دسته‌ی انسدادی و غیرانسدادی طبقه‌بندی می‌شود. آزواسپرمی غیرانسدادی تقریباً ۶۰ درصد از موارد آزواسپرمی را شامل می‌شود؛ فاکتورهای محیطی و ژنتیکی مختلفی را می‌توان در ایجاد عارضه‌ی آزواسپرمی غیرانسدادی دخیل دانست. تاکنون ژن‌های متعددی به عنوان عامل ایجاد این بیماری معرفی شده‌اند که در اسپرماتوژنز و تکوین بیضه نقش دارند. این ژن‌ها بر روی کروموزوم Y یا کروموزوم‌های اتوزوم قرار گرفته‌اند. هدف از تحقیق حاضر، بررسی ریزحذف‌های کروموزوم Y و جهش‌های ژن STAG3 در مردان ایرانی مبتلا به آزواسپرمی غیرانسدادی است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، از ۱۲۲ مرد مبتلا به آزواسپرمی غیرانسدادی با علت ناشناخته و ۱۰۰ مرد سالم با حداقل یک فرزند نمونه خون گرفته شد و DNA آن استخراج گردید. نمونه‌ها از نظر وجود ریزحذف‌های کروموزوم Y به روش MultiplexPCR مورد بررسی قرار گرفتند. سپس وجود جهش‌های احتمالی در اگزون ۷ ژن STAG3 به کمک روش MSSCP بررسی شد.

یافته‌ها: ۱۳ نفر معادل ۱۰/۶۶ درصد از افراد بیمار ریزحذف‌های کروموزوم Y را نشان دادند. هیچ نوع جهشی در توالی اگزون ۷ ژن در بیماران مورد مطالعه مشاهده نگردید. وقوع ریزحذف‌های کروموزوم Y در هیچ یک از افراد گروه کنترل مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان می‌دهند که ریزحذف‌های کروموزوم Y به عنوان اصلی‌ترین عامل آزواسپرمی غیرانسدادی مطرح بوده و مهم‌ترین کاندید جهت انجام تست‌های تشخیصی می‌باشند. جهش‌های ژن STAG3 در میان افراد مبتلا به آزواسپرمی غیرانسدادی شایع نیست.

واژگان کلیدی: ریزحذف، کروموزوم Y، آزواسپرمی، جهش، STAG3

* نویسنده مسئول: ایران، تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، گروه ژنتیک پزشکی

Email: reza_mirfakhraie@yahoo.com

مقدمه

ناباروری یکی از مشکلات عدیده پزشکی در دنیای امروز می‌باشد که نرخ آن در جهان در حال افزایش است (۱). اکثر آمارهای جهانی فاکتورهای مردانه را علت تقریباً نیمی از موارد ناباروری می‌دانند (۲). ناباروری در مردان دارای چندین حالت از جمله کاهش میزان اسپرم، نقص در حرکت و تغییر در مورفولوژی آن می‌باشد (۳). یکی از انواع ناهنجاری‌های اسپرمی، آزواسپرمی به معنی فقدان اسپرم در انزال است که علل آن به دو گروه انسدادی و غیرانسدادی قابل تقسیم می‌شود. آزواسپرمی انسدادی، فقدان اسپرم در انزال به خاطر ناتوانی در انتقال اسپرم از بیضه تا مجرای خروجی مثانه یا پیشابراه می‌باشد (۴). آزواسپرمی غیر انسدادی یک اختلال هتروژن است که علت آن ناتوانی بیضه در تولید اسپرم کافی و قابل ملاحظه در مایع منی می‌باشد. آزواسپرمی غیر انسدادی تقریباً ۶۰ درصد از موارد آزواسپرم را شامل شده و حالت شدیدتری از فاکتورهای ناباروری مردان را نشان می‌دهد (۵). عوامل موثر بر ایجاد آزواسپرمی غیر انسدادی به عوامل محیطی و ژنتیکی تقسیم بندی می‌شود. مهم‌ترین عوامل ژنتیکی عبارت‌اند از: اختلالات توارثی هیپوتالاموس-هیپوفیز (۶)، ناهنجاری‌های کروموزومی (۷)، ریزحذف‌های کروموزوم Y (۸)، پلی‌مورفیسم‌ها و جهش‌های ژنی (۹).

بازوی بلند و کوتاه کروموزوم Y شامل ژن‌های بسیاری می‌باشد که اسپرما توژنز و تکوین بیضه را تنظیم می‌کنند (۹). ریزحذف‌های بازوی بلند کروموزوم Y از علت‌های رایج ناباروری در مردان است. این ناحیه، Yq11، به عنوان عامل آزواسپرمی (AZF) نامیده می‌شود که شامل نواحی AZFa، AZFb و AZFc می‌باشد. شیوع ریز حذف‌ها در مردان آزواسپرم ۱۰ تا ۱۵ درصد گزارش شده است (۸). هم‌چنین مطالعات اخیر بر روی مدل‌های حیوانی نشان می‌دهد که برخی از ژن‌های کروموزوم‌های اتوزوم نیز در ایجاد ناباروری موثر هستند.

از جمله ژن‌های اتوزومی که اخیراً به عنوان کاندید برای ناباروری در مردان مطرح شده است، ژن *STAG3* است. این ژن براساس پایگاه اطلاعاتی Gene card بر روی بازوی بلند کروموزوم ۷ (7q22.1) قرار دارد و به نام‌های *STROMALIN3*، *POF8*، *SCC3 Homolog*، *SA-3* و *Cohesin Subunit SA-3* معروف است. از نظر مولکولی *STAG3* یک جزء ویژه کمپلکس کوهسین میوزی می‌باشد که با یک ساختار پروتئینی حلقه‌ای شکل، کروماتیدهای خواهری را کنار هم نگه می‌دارد. ثبات ساختار کوهسین در اتصال صحیح کروموزوم‌ها به رشته‌های دوک و نیز جدایی صحیح آن‌ها ضروری می‌باشد (۱۰). در تنها مطالعه‌ای که کابورت و همکاران در سال ۲۰۱۴ در زمینه‌ی ارتباط جهش‌های ژن *STAG3* با ناباروری در انسان انجام دادند مشخص گردید که وقوع جهش حذفی در اگزون ۷ ژن *STAG3* می‌تواند منجر به ناباروری شود (۱۱). هم‌چنین، لیانو و همکاران در سال (۲۰۱۴) نشان دادند که موش‌های فاقد ژن *STAG3* کاهش شدیدی در میزان اسپرم نشان می‌دهند (۱۰). بنابراین این مطالعات بیان‌گر نقش ژن *STAG3* به عنوان یک کاندید قوی در ناباروری مردان می‌باشد. با توجه به مطالب ذکر شده، هدف از انجام تحقیق حاضر بررسی فراوانی ریزحذف‌های کروموزوم Y و جهش‌های احتمالی در اگزون ۷ ژن *STAG3* در مردان ایرانی مبتلا به آزواسپرمی غیرانسدادی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع مورد-شاهدی مقطعی و نیز توصیفی می‌باشد. افراد مورد مطالعه این پروژه از میان بیماران بخش IVF بیمارستان دی، مرکز درمان ناباروری کوثر و مرکز تحقیقاتی و درمانی ناباروری یزد و با بررسی دقیق پرونده‌های مربوطه انتخاب شدند. گروه بیمار شامل مردان آزواسپرم با علت ناشناخته بودند که فاقد اختلالات ساختاری دستگاه تناسلی، نئوپلاسم بیضه، اختلالات کاریوتایپی و هم‌چنین عدم مصرف داروی خاص بودند.

داده‌ها با استفاده از آزمون‌های کای مربع و فیشر در نرم افزار SPSS (نسخه ۱۸) صورت گرفت. مقادیر p کوچک‌تر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شدند. این تحقیق در کمیته اخلاق دانشگاه شهید بهشتی تصویب شده و از تمام افراد شرکت کننده در پروژه فرم رضایت‌نامه دریافت شد.

یافته‌ها

بیماران مورد مطالعه در رده سنی ۲۱ تا ۶۰ سال ($43/41 \pm 32$) بودند. میزان شمارش اسپرم در کلیه‌ی بیماران مطابق دستورالعمل سازمان بهداشت جهانی در ۱ میلی‌لیتر از مایع منی برابر صفر تعیین گردید. کم‌ترین میزان سرمی هورمون FSH در بیماران برابر ۲/۳۰ و بیش‌ترین مقدار آن برابر ۷۶ mIU/ml تعیین گردید. میانگین میزان سرمی هورمون FSH در بیماران برابر $1/54 \pm 29/88$ تعیین گردید. محدوده طبیعی این هورمون در افراد بارور ۳/۵ تا ۱۲/۵ می‌باشد. کم‌ترین میزان سرمی هورمون LH در بیماران برابر ۱/۲۰ و بیش‌ترین مقدار آن برابر ۳۵ mIU/ml تعیین گردید. میانگین میزان سرمی هورمون LH در بیماران برابر $6/28 \pm 13/69$ تعیین شد. محدوده طبیعی این هورمون در افراد بارور ۰/۶ تا ۱۱ است.

در بررسی ریزحذف‌های کروموزوم Y، ۱۳ نفر از بیماران (۱۰/۶۶ درصد) وقوع ریزحذف‌ها را نشان دادند. جدول ۱ و ۲ نوع و مکان حذف‌های مشاهده شده را نشان می‌دهند. هیچ نوع حذفی در مارکرهای مورد مطالعه در افراد شاهد بارور مشاهده نگردید $p < 0/05$. در بین بیمارانی که دارای حذف بودند ۷ نفر (۵۳/۸۵ درصد) تنها دارای حذف در منطقه AZFc، ۵ نفر (۳۸/۴۶ درصد) دارای حذف در منطقه AZFb و یک نفر (۷/۷ درصد) دارای حذف در هر دو منطقه AZFb و C بودند.

انتخاب بیماران براساس دستورالعمل نحوه شمارش اسپرم بر اساس معیار سازمان بهداشت جهانی صورت گرفت. بدین ترتیب از ۱۲۲ مرد مبتلا به آرواسپرمی غیرانسدادی با علت ناشناخته به طور تصادفی و بدون محدودیت سنی، ۵ میلی‌لیتر نمونه خون محیطی گرفته شد که نمونه‌ها در فالكون حاوی ۵۰۰ میکرو لیتر محلول EDTA (۲۰ میلی‌مولار، pH=۸) جمع‌آوری و نمونه‌ها تا زمان استخراج در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس DNA با استفاده از کیت MTU تولید شده در گروه ژنتیک پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی از خون محیطی استخراج گردید. کیفیت، غلظت و خلوص DNA از طریق دستگاه اسپکتروفوتومتر مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه‌ها از نظر وجود ریزحذف‌های کروموزوم Y به کمک روش Multiplex PCR (Amplicon PCR Master) دانمارک) و با استفاده از پروتکل EAA انجمن آندروولوژی اروپا مورد بررسی قرار گرفته و در صورت وجود ریز حذف، نمونه‌های مذکور از دامنه‌ی مطالعات حذف شدند (۱۲). توالی پرایمر مربوط به هر مارکر و طول محصولات PCR در جدول ۱ ذکر شده است. در مرحله‌ی بعدی به تکثیر قطعه‌ی مورد نظر (اگزون ۷) و هم‌چنین بخشی از توالی‌های اینترونی مجاور آن به کمک یک جفت پرایمر خاص این محدوده که با استفاده از نرم افزار آنالاین PrimerBlast در سایت NCBI طراحی شده بود، پرداخته شد. لازم به ذکر است طول محصول PCR، ۳۰۱ جفت باز می‌باشد. در مرحله‌ی بعد، برای غربال‌گری جهش توسط اگزون ۷ ژن مذکور از روش MSSCP (با اعمال تغییراتی در پروتکل استاندارد MSSCP) استفاده شد (۱۳). تعدادی از نمونه‌ها نیز که مشکوک به تغییر الگوی باندها بودند، جهت توالی‌یابی ارسال شدند و با استفاده از نرم افزار Chromas (نسخه ۲/۳۳) مورد بررسی قرار گرفتند. تحلیل آماری

جدول ۱. توالی پرایمرهای مربوط به مارکرهای STS ، منطقه مربوطه و طول محصول PCR

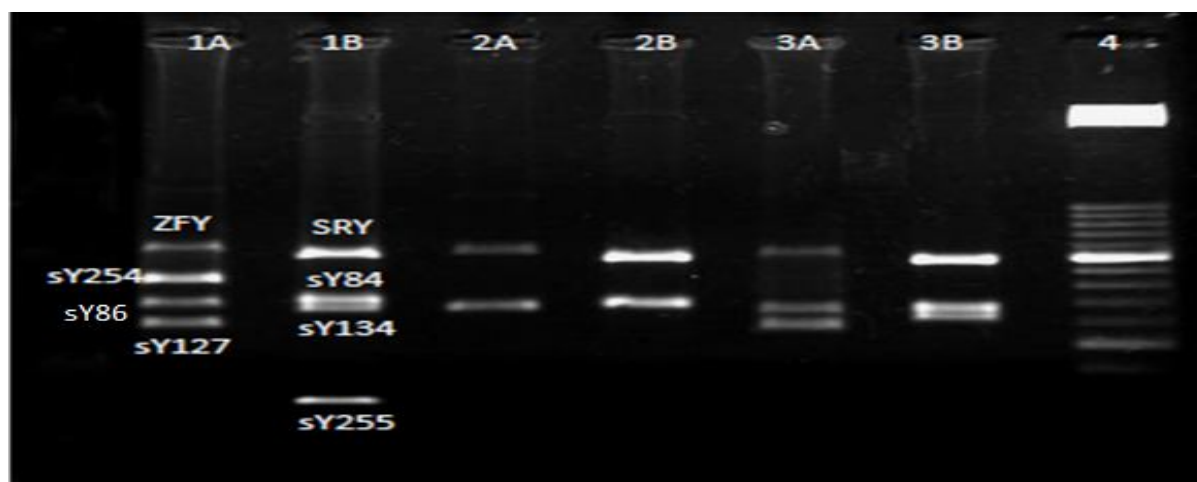
STS	AZF zone	Sequence	PCR product size(bp)
sY86-F	AZFa	5'-GTG ACA CAC AGA CTA TGC TTC-3'	۳۱۸
sY86-R		5' - ACA CAC AGA GGG ACA ACC CT - 3'	
sY127-F	AZFb	5'-GGC TCA CAA ACG AAA AGA AA-3'	۲۷۴
sY127-R		5'-CTG CAG GCA GTA ATA AGG GA-3'	
sY254-F	AZFc	5'-GGG TGT TAC CAG AAG GCA AA-3'	۳۸۰
sY254-R		5'-GAA CCG TAT CTA CCA AAG CAG C-3'	
sY84-F	AZFa	5'-AGA AGG GTC CTG AAA GCA GGT-3'	۳۲۶
sY84-R		5'-GCC TAC TAC CTG GAG GCT TC-3'	
sY134-F	AZFb	5'-GTC TGC CTC ACC ATA AAA CG-3'	۳۰۱
sY134-R		5'-ACC ACT GCC AAA ACT TTC AA-3'	
sY255-F	AZFc	5'-GTT ACA GGA TTC GGC GTG AT-3'	۱۲۳
sY255-R		5'-CTC GTC ATG TGC AGC CAC-3'	

جدول ۲. نوع مارکر STS و ناحیه حذف شده در کروموزوم Y در بیماران مورد مطالعه.

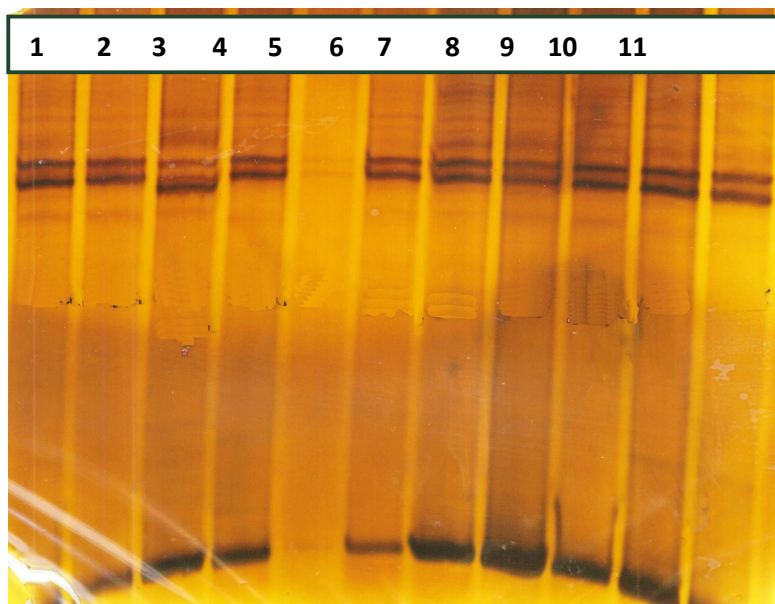
شماره بیمار	ناحیه حذف شده	مارکر حذف شده
۱۱	AZFc	sY254,sY255
۱۲	AZFb	sY127,sY134
۱۳	AZFb	sY127,sY134

شکل ۱ نمونه‌ای از ژل‌های آگارز ۲ درصد است که حذف‌های نواحی AZFabc در بیماران را نشان می‌دهد. بررسی اگزون ۷ ژن *STAG3* در گروه بیماران با استفاده از روش MSCP بیانگر عدم وقوع جهش در نمونه‌های مورد مطالعه بود. شکل ۲ نشان دهنده نمونه‌ای از ژل‌های MSCP است.

شماره بیمار	ناحیه حذف شده	مارکر حذف شده
۱	AZFc	sY254,sY255
۲	AZFc	sY254,sY255
۳	AZFb,c	sY127,sY134,sY254,sY255
۴	AZFb	sY127,sY134
۵	AZFc	sY254,sY255
۶	AZFb	sY127,sY134
۷	AZFb	sY127,sY134
۸	AZFc	sY254,sY255
۹	AZFc	sY254,sY255
۱۰	AZFc	sY254,sY255



شکل ۱. نمونه‌ای از ژل آگارز ۲ درصد در ارتباط با Multiplex PCR. در این شکل ستون 1A و 2A مردان بارور هستند که تمام نواحی AZFabc در دو کمپلکس با دو جفت STS مرتبط به صورت متفاوت برای هر ناحیه مورد بررسی قرار گرفته است. ستون 2A فردی است که فاقد ناحیه‌ی AZFbc (فاقد مارکرهای sY254 و sY127) است. فرد 2B فاقد ناحیه‌ی AZFbc (فاقد مارکرهای sY134 و sY255) است. ستون 3A فردی است که فاقد ناحیه‌ی AZFc (فاقد مارکر sY254) است. ستون 3B فردی است که فاقد ناحیه‌ی AZFc (فاقد مارکر sY255) است و ستون 4 اندازه مارکر ۵۰ جفت بازی می‌باشد.



شکل ۲. ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد واکنش MSSCP مربوط به نمونه های بیمار و کنترل. نمونه های شماره ۱، ۲، ۴، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰ و ۱۱ افراد بیمار فاقد جهش در اگزون ۷ ژن *STAG3* می باشند. نمونه ی شماره ۳ دارای الگوی تغییر باند و مشکوک به جهش می باشد. نمونه ی شماره ۴ کنترل می باشد.

بحث

زمینه تکنیک های ژنتیکی صورت گرفته و با استفاده از نتایج حاصل از توالی یابی کل اگزوم، مطالعات GWAS و مدل های حیوانی ژن های کاندید جدیدی در ارتباط با بسیاری از بیماری ها از جمله آزواسپرمی معرفی شده است.

کابورت و همکاران در سال ۲۰۱۴ با استفاده از روش توالی یابی کل اگزوم در خانواده ای که بیشتر اعضای آن مبتلا به POF (نارسایی زودرس تخمدان) بودند نشان دادند که علت بیماری حذف یک جفت باز به صورت هموزیگوت c.968delC بر روی اگزون ۷ ژن *STAG3* بود. این حذف منجر به ایجاد یک موتاسیون تغییر قاب به صورت p.F187fs*7 می شود که نتیجه ی آن ایجاد یک کدون خاتمه زودرس و حذف اسیدهای آمینه کدشونده به وسیله اگزون های ۸ تا ۳۴ است. از این رو، جهش در ژن *STAG3* را عامل فنوتیپ ناباروری در افراد مونث خانواده معرفی نمودند (۱۱).

لیانو و همکاران با استفاده از نتایج این تحقیق و جهت اثبات نقش این ژن در ناباروری افراد مذکر از مدل های موشی که در اینترون ۸ ژن *STAG3* جهش داشتند استفاده نمودند. نتایج آزمایش بدین گونه بود که موش های نر هتروزیگوت کاملاً بارور بوده، ولی موش های نر هموزیگوت فاقد این ژن نابارور بودند و اندازه بیضه ها به

در مطالعه حاضر، ۱۰/۶۶ درصد از بیماران وقوع حذف در نواحی AZF کروموزوم Y را نشان دادند، اما هیچ گونه جهش در ارتباط با اگزون ۷ ژن *STAG3* مشاهده نگردید. آزواسپرمی غیر انسدادی تقریباً ۶۰ درصد از موارد آزواسپرمی را شامل می شود، از این رو تشخیص و شناسایی آن در میان بیماران آزواسپرم از اهمیت بالایی برخوردار است. علت شناسی این بیماری و در امتداد آن درمان بیماری بسیار مشکل است. رایج ترین تغییرات ژنتیکی که باعث ابتلا به این بیماری می شود، شامل ریز حذف های کروموزوم Y و ناهنجاری های کروموزومی است (۱۴، ۱۵). با این وجود، فاکتورهای ژنتیکی مذکور تنها علت درصد کمی از موارد بیماری می باشد و در بسیاری از بیماران علت بیماری همچنان ناشناخته باقی مانده است (۱۶). هدف از انجام این نوع تحقیقات تعیین رابطه ی بین فنوتیپ و ژنوتیپ و ارائه ی تست های تشخیصی با هدف کمک به بیمارانی است که به دنبال روش های کمک باروری هستند. در این راستا تست های رایجی که در کل دنیا طبق پروتکل ها موجود می باشد عبارت اند از: تعیین کاریوتایپ، بررسی ریز حذف های کروموزوم Y و همچنین بررسی جهش های ژن گیرنده آندروژن. امروزه با توجه به پیشرفت هایی که در

شدت کوچک شده بود. هم‌چنین لوله‌های سمینیفروس فاقد سلول‌های هاپلوئیدی اسپرم بود (۱۰). بنابراین مشخص گردید که ژن *STAG3* نه تنها در اووژنز بلکه در اسپرماتوژنز نیز نقش دارد.

مطالعه حاضر اولین مطالعه‌ای است که به بررسی ژن *STAG3* در مردان آزواسپرم پرداخته است. نتیجه تحقیق حاضر بیان‌گر فقدان جهش این ژن در بیماران مورد مطالعه بود. با توجه به این که در این مطالعه تنها اگزون رمز کننده‌ی دمین *STAG* در پروتئین مورد بررسی می‌باشد، بنابراین این احتمال وجود دارد که جهش در سایر اگزون‌ها عامل ایجاد بیماری باشد. بنابراین برای حصول نتایج دقیق‌تر لازم است که در مطالعات بعدی توالی سایر اگزون‌های این ژن نیز بررسی قرار شود. به علاوه با توجه به این که بیماری آزواسپرمی غیر انسدادی یک بیماری هتروژن است، مطالعه سایر ژن‌های کاندید در مدل‌های حیوانی ضروری به نظر می‌رسد.

نتیجه‌گیری

به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که بررسی جهش‌های ژن *STAG3* لااقل کاندید مناسبی جهت غربال‌گری بیماران نمی‌باشد و احتمالاً تنها به صورت تک‌گیر می‌تواند عامل ایجاد بیماری در برخی از افراد مبتلا باشد. با استناد به نتایج تحقیق حاضر و نیز سایر مطالعات انجام شده، بررسی ریز حذف‌های کروموزوم Y مهم‌ترین علت ژنتیکی ابتلا به این بیماری بوده و هم‌چنان اصلی‌ترین فاکتور غربال‌گری بیماران جهت شناخت اتیولوژی بیماری می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله بر اساس نتایج حاصل از پایان‌نامه کارشناسی ارشد خانم سارا پوریامنش دانشجوی رشته ژنتیک پزشکی با عنوان «بررسی موتاسیون اگزون ۷ ژن *STAG3* و مطالعه‌ی هم‌بستگی پلی مورفیسم ژن *CLOCK* (rs11932595) در مردان نابارور ایرانی مبتلا

به آزواسپرمی غیر انسدادی ایدیوپاتیک» مصوب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی نگاشته شده است. بدین وسیله از پرسنل بخش IVF بیمارستان دی، مرکز درمان ناباروری کوثر، مرکز تحقیقاتی و درمانی ناباروری یزد و کلیه افراد شرکت کننده در این تحقیق به جهت همکاری صمیمانه قدردانی می‌گردد.

منابع

1. Venkatesh T, Suresh PS, Tsutsumi R. New insights into the genetic basis of infertility. The application of clinical genetics. 2014;7:235.
2. Kostiner DR, Turek PJ, Reijo RA. Male infertility: analysis of the markers and genes on the human Y chromosome. Human reproduction. 1998;13(11):3032-8.
3. Organization WH. WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction: Cambridge university press; 1999.
4. Nelson K, Schlegel P. Obstructive and Nonobstructive Azoospermia. Office Andrology: Springer; 2005. p. 201-13.
5. Akhondi MM, Sedighi MA, Amirjannati N, Sadri-Ardekani H. Use of spermatide for treatment of non-obstructive azoospermic patients. Journal of Reproduction & Infertility. 2003;4(3)
6. Pastore AL, Leto A, Carbone A, Palleschi G, Silvestri L. Obstructive and Non-Obstructive Azoospermia: INTECH Open Access Publisher; 2012.
7. Ferlin A, Raicu F, Gatta V, Zuccarello D, Palka G, Foresta C. Male infertility: role of genetic background. Reproductive biomedicine online. 2007;14(6):734-45.
8. Foresta C, Moro E, Ferlin A. Y chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis 1. Endocrine reviews. 2001; 22(2): 226-39.
9. Hamada AJ, Esteves SC, Agarwal A. A comprehensive review of genetics and genetic testing in azoospermia. Clinics. 2013;68:39-60.
10. Llano E, Gomez-H L, García-Tuñón I, Sánchez-Martín M, Caburet S, Barbero JL, et al. *STAG3* is a strong candidate gene for male

- infertility. *Human molecular genetics*. 2014; 23(13): 3421-31.
11. Caburet S, Arboleda VA, Llano E, Overbeek PA, Barbero JL, Oka K, et al. Mutant cohesin in premature ovarian failure. *New England Journal of Medicine*. 2014; 370(10): 943-9.
12. Krausz C, Hoefsloot L, Simoni M, Tüttelmann F. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013. *Andrology*. 2014;2(1):5-19.
13. Kaczanowski R, Trzeciak L, Kucharczyk K. Multitemperature single-strand conformation polymorphism. *Electrophoresis*. 2001; 22(16): 3539-45.
14. Reijo R, Alagappan RK, Page D, Patrizio P. Severe oligozoospermia resulting from deletions of azoospermia factor gene on Y chromosome. *The Lancet*. 1996; 347(9011): 1290-3.
15. Van Assche E, Bonduelle M, Tournaye H, Joris H, Verheyen G, Devroey P, et al. Cytogenetics of infertile men. *Human reproduction*. 1996;11(suppl 4):1-26.
16. Dohle G, Halley D, Van Hemel J, Van Den Ouwel A, Pieters M, Weber R, et al. Genetic risk factors in infertile men with severe oligozoospermia and azoospermia. *Human Reproduction*. 2002; 17(1):13-6.