

## دراسة وراثية . خلوية للأشخاص الذين يعانون من حالة اللانطفية وقلة النطف الشديدة في محافظة الانبار

سمير مشرف خلف<sup>١</sup> ، عادل فوزي شهاب<sup>٢</sup> ، عقيل حسين علي العاصي<sup>٢</sup>

<sup>١</sup> قسم علوم الحياة ، كلية التربية للبنات ، جامعة الانبار، الرمادي ، العراق

<sup>٢</sup> قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

\*مستل من أطروحة الدكتوراه للباحث الأول

( تاريخ الاستلام: ١٥ / ١٢ / ٢٠١٠ ---- تاريخ القبول: ١٦ / ٣ / ٢٠١١ )

### الملخص

اجري تحليل السائل المنوي لـ(٣٠٩) فرد من المرضى قليلي الخصوبة في محافظة الانبار والذين تم تقسيمهم إلى مجموعتين استنادا إلى نوع الخصوبة إذ تضمنت المجموعة الأولى حالات اللانطفية وعددهم(٢١٧،٢٣%) والمجموعة الثانية حالات قلة النطف الشديدة وعددهم ٩٢ (٢٩،٧٧%)، بالإضافة إلى ٤٠ فردا سليما وله ذرية سليمة كعينة مقارنة .

تم تحليل سجلات النسب لأفراد العينة لغرض تحديد نمط توارث الإصابة بقلة الخصوبة لديهم ، بالإضافة الى إجراء بعض الفحوصات الهرمونية (Testosterone Hormone ,Prolactine Hormone ,Follicle Stimulation Hormone ,Lotine Hormone) لاستبعاد العينات التي تحوي خلل هرموني، وشملت الدراسة فحوص الوراثة الخلوية(٦١ حالة) منها (٤٣ حالة) لمرضى اللانطفية و(١٨ حالة) لمرضى قلة الخصوبة مقارنة مع (٤٠ حالة) من مجموعة السيطرة.

أظهرت نتائج دراسة تحليل سجلات النسب أن هناك سريان عائلي مع وجود علاقة عائلية وراثية لقلّة الخصوبة إذ بلغت نسبة الحالات ذات التاريخ العائلي الموجب ١٦ (٧،٣٧%) و ٣ (٣،٢٦%) لحالات اللانطفية وقلة النطف على التوالي.

أوضحت الدراسة وجود اضطرابات هرمونية في ٤٨ (٨٠،٢٦%) حالة من اللانطفية ولحالة قلة النطف الشديدة وتم استبعاد هذه العينات لحصر الحالات السليمة وإجراء الفحوصات الوراثة عليها .

أظهرت تحليلات الوراثة الخلوية للدم المحيطي لحالات قلة الخصوبة(اللانطفية، قلة النطف) وجود تشوهات كروموسومية بنسبة مئوية (١٦،٢٨% لدى المرضى المصابين باللانطفية و (٥،٥٦%) لدى المرضى المصابين بقلة النطف الشديدة ، بينما لم تلاحظ تشوهات كروموسومية عديدة أو تركيبية بشكل واضح لدى عينة السيطرة.

### ٢- المقدمة Introduction

وظيفة الحيمن. إن حوالي 40% من حالات عدم الخصوبة هي بسبب خلل وراثي في إنتاج ووظيفة الحيمن ، إذ إن عدم الخصوبة ينتج عن قلة عدد الحيامن Oligospermia (اقل من ٢٠ مليون حيمن في الملي لتر الواحد من السائل المنوي) أو عن ضعف حركة الحيامن Asthenospermia (اقل من ٦٠ % من الحيامن لها حركة قوية والى الأمام) أو عن قلة الحيامن طبيعية الشكل

Teratospermia (تشكل الحيامن الطبيعية أقل من ٣٠ %) وهذه الحالات يمكن كشفها بالفحص المجهرى (Microscopic examination) للسائل المنوي ، غير أن هناك حالات لعدم الخصوبة لا يمكن تشخيصها بواسطة التحليل المجهرى للسائل المنوي ، منها الحالات التي تكون فيها الحيامن فعالة ولها شكل طبيعي وعدد مناسب ولكنها لا تستطيع إخصاب البيضة بسبب وجود خلل كيميويوي (Biochemical abnormality) [٦،٨].

و نظرا لأهمية الموثينات المتزايدة في مختلف الحقول البايولوجية ولأسيما فيما يتعلق بالقنوات التناسلية والتنفسية والأوعية الدموية والقلب وتقلص العضلات للمساء وبعض الحالات المرضية كالحمى والالتهابات لذا فقد تم دراسة هذه المركبات وتركيبها الكيميائي

أثارت ظاهرة التكاثر اهتمام العلماء والباحثين منذ فترة طويلة لارتباطها بحياة الإنسان من جهة وابتقال الصفات الوراثية من الآباء إلى الأبناء من جهة ثانية لذلك كان لابد من معرفة كنه هذه العملية والخلايا المسؤولة عنها والتمثلة بالنطف والبيوض ودراسة صفاتها في كلا الجنسين فضلاً عن معرفة العوامل والهرمونات المسؤولة عن هذه العملية الفسيولوجية المهمة [١].

تعد قلة الخصوبة Subfertility من المشاكل الاجتماعية التي تسبب الاضطرابات والأزمات النفسية بين الأزواج الذين فشلوا في الإنجاب بعد مرور عام على الزواج المستمر وبدون استعمال موانع الحمل [٣،٢]، إذ يعاني الزوجان من الكآبة النفسية والإحباط والقلق أو ما يسمى بأزمة عدم الخصوبة Crisis of Infertility [٥،٤]. إن نسبة 20% من حالات العقم تكون أسبابها مشتركة بين الزوجين وتتقسم النسبة المتبقية مناصفة [٧،٤] ، ومنذ حوالي ثلاث عقود أدى التطور في فهم فعالية وعدم فعالية الحيمن إلى زيادة مفاهيمنا عن عدم خصوبة الذكر. تعود أسباب عدم خصوبة الذكر الى عوامل هرمونية (Hormonal) أو وراثية (Genetic) وسواء كانت الأسباب هرمونية أو وراثية فإن جميع المعلومات الموثقة والمتعلقة بعدم خصوبة الذكر موجودة في السائل المنوي تؤدي إلى خلل في إنتاج

درجة حرارة الغرفة لمدة (20) دقيقة بعدها تم فصل مصل الدم باستخدام النايدة Centrifuge ويسرعة (3000) دورة/دقيقة ولمدة (10) دقائق، وبعدها سحب المصل Serum وعندنا قسم الى ثلاثة أنابيب اختبار نبيذه وذلك من أجل ضمان عدم تعرض العينة للإذابة والتجميد أكثر من مرة واحدة . تم قياس تراكيز الهرمونات (LH,FSH,PRL,TEST) بإتباع الخطوات المرفقة مع عدة الفحص الخاصة بها وحسب تعليمات الشركة المصنعة وباستخدام جهاز ELISA و جهاز miniVLDAS [٢٥]. وبعد إجراء الفحوصات أعلاه تم استبعاد العينات ذات النتائج غير السليمة .

### ٣-٣- الفحوصات الخلوية الوراثية

استعملت الطريقة المتبعة لزراعة وحصاد الخلايا المفقية المذكورة من قبل [٢٧] والتي اجري لها بعض التحويرات من قبل المركز العراقي لبحوث السرطان و الوراثة الطبية (الجامعة المستنصرية) . زرعت ٦١ عينة دم مسحوبة من أشخاص يعانون من حالة اللانطفية وقلة النطف الشديدة وقسم هرموناتهم كانت ضمن القيم الطبيعية للأصحاء [٢٦،٢٧،٢٨،٢٩]،

فحصت الشريحة الزجاجية جيداً بواسطة المجهر الضوئي نوع ( BEL by Chine ) مزود بشاشة عرض باستعمال العدسة الشيئية (10X) وتم إجراء مسح شامل على الشريحة للبحث عن الخلايا المنقسمة ، فحصت الخلايا المنقسمة باستخدام العدسة الزيتية (100X) وصورت الخلايا المنقسمة لغرض معرفة العدد الكلي للكروموسومات ، حسب التغيرات الكروموسومية Chromosomal Aberrations في الخلايا المنقسمة في الطور الاستوائي وتحديد الاضطرابات الكروموسومية باستخدام نظام اليكتروني (smart Type) ( يستخدم لأول مرة في العراق ) يقوم بفحص كل كروموسوم بشكل تفصيلي وحساب كل التغيرات بشكل عشوائي مارا في الطور الاستوائي من دورة انقسام الخلية ومقارنتها على الشبكة العنكبوتية بقاعدة معلومات معدة أصلا لغرض تحديد الاضطرابات الوراثية [٣٠].

### ٤- النتائج Results

٤-١ - دراسة نمط توارث اللانطفية وقلة النطف وتحليلات السائل المنوي:

أظهرت نتائج تحليلات السائل المنوي لـ ٣٠٩ مريضاً مصاباً بقلة الخصوبة ؛ أن نسبة ٧٠,٢٣ % من الحالات كانت لمرضى يعانون من اللانطفية ونسبة ٢٩,٧٧ % من الحالات لمرضى يعانون من قلة النطف وكما هو موضح في الجدول (١) .

جدول (١) نسبة حالات عقم اللانطفية وقلة النطف.

نوع العقم	عدد الحالات	النسبة المئوية
اللانطفية	٢١٧	٧٠,٢٣
قلة النطف	٩٢	٢٩,٧٧
المجموع	309	١٠٠

وطبيعتها البيولوجية وتم إدخالها ضمن المواد الصيدلانية لدورها في صحة الإنسان [١٢،٩].

لقد أشار العديد من الباحثين الى وجود علاقة مهمة بين الموثينات والجهاز التناسلي الذكري حيث اقترحت الدراسات الحديثة إن من ضمن الوظائف المهمة للجهاز التناسلي الذكري هو إنتاج الاندروجينات والموثينات، إذ أثبتت أن للموثينات دوراً في نقل النبيبات الناقلة للمني Somniferous tubules والبربخ Epididymis فضلاً عن دورها في نضج النطف وانتقالها [١٠،١١]. وبعد الخل في عملية تكوين النطف Spermatogenesis السبب في 2% من حالات العقم عند الرجال [١٥،١٤]. والتي قد تعزى الى أسباب وراثية كالتشوهات الكروموسومية التي قد تحدث للكروموسومات الجسمية (الانتقال أو الانقلاب) أو الجينية (الحذف الدقيق والطفرات النقطية) لبعض جينات كروموسوم الذكورة Y أو لجينات أخرى تتعلق بالخصوبة عند الرجال [١٦،١٧،٢٢]، و نظراً لقلة الدراسات وعدم وضوح الأسباب وراء العديد من حالات اللانطفية وقلة النطف لدى الرجال ، لذا فقد جاءت فكرة هذه الدراسة والتي تهدف الى تحديد الأسباب الوراثية على المستوى الكروموسومي لحالة اللانطفية وقلة النطف لدى الرجال الذين لا يعانون من مشاكل هرمونية أو انسداد في القنوات التناسلية.

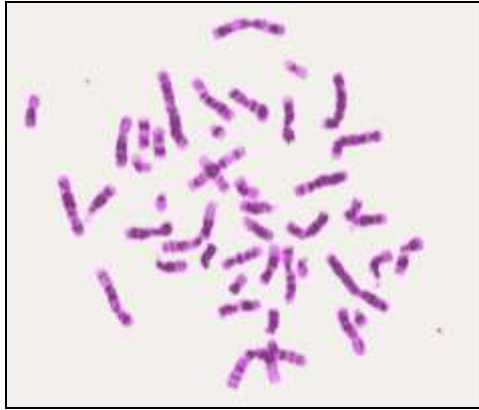
### ٣. المواد وطرائق العمل Materials and Methods

٣-١ نمط توارث الإصابة باللانطفية وقلة النطف وتحليل السائل المنوي:

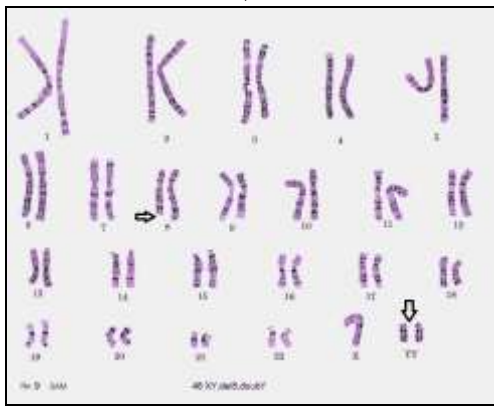
تم انجاز جميع الفحوصات للأشخاص قيد الدراسة في مختبرات كلية العلوم - جامعة تكريت ، مستشفى النسائية والأطفال - الرمادي ومختبر خاص للتحليلات المرضية - الرمادي. إذ جمعت عينات السائل المنوي من ٣٠٩ مريض تراوحت أعمارهم بين ٢١-٤٥ سنة يعانون من قلة الخصوبة منهم ٢١٧ فرداً يعانون من اللانطفية و ٩٢ فرداً من قلة النطف الشديدة . كما تم جمع ٤٠ عينة من أشخاص أصحاء تراوحت أعمارهم بين ٢٣-٤٥ سنة (لهم ذرية سليمة) ولا يعانون من أي اضطرابات صحية . وقد سجلت البيانات الخاصة بكل فرد والتي شملت عمر الفرد ونوع ومدة العقم والأمراض المصاب بها منذ الطفولة وتدوين التاريخ العائلي للعقم (الأخوان والأخوات والأعمام والعمات والأخوال والخالات والأقارب ) . حدد لون ومدة الاماعة والأس الهيدروجيني في السائل المنوي كما تم تحديد تركيز النطف والنسبة المئوية للنطف غير السوية وتركيز كريات الدم الحمر والخلايا البلعمية لكل عينة وبالاعتماد على الطرق المعتمدة عالمياً [٢٣،٢٤]. استبعدت العينات التي تتراوح فيها نسبة العدد الكلي أكثر من ٢٠ مليون حيمن في الملي لتر الواحد .

### ٣-٢ الفحوصات الهرمونية

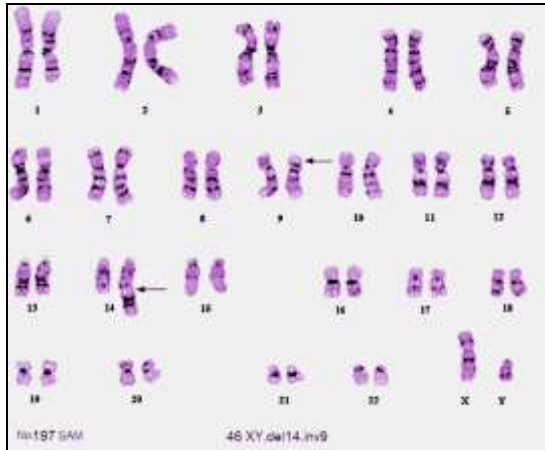
سحب من كل فرد من المصابين بقلة الخصوبة (والبالغ عددهم ٣٠٩ فرد ) والأصحاء (والبالغ عددهم ٤٠ فرد) ٥مل من الدم الوريدي والذي وضع في أنابيب خالية من مادة مانع التخثر ثم تركت أنابيب الدم في



شكل (١) طور استوائي طبيعي لخلايا الدم المحيطي لدى مجموعة الذكور الخصيين (١٠٠x).



شكل (٢) الهيئة الكروموسومية لخلايا الدم المحيطي لمريض مصاب باللانطفية (del8,deubY) .



شكل(٣)الهيئة الكروموسومية لخلايا الدم المحيطي لمريض مصاب بقلّة النطف (del14,inv9) .

#### ٥- المناقشة Discussion

ازداد الاهتمام بدراسة الأسباب الوراثية للعقم عند الرجال لاسيما بعد اكتشاف تقنية حقن النطفة داخل سايتوبلازم البويضة ICSI في ١٩٩١، التي بدورها أحدثت ثورة في علاج اغلب حالات العقم التي كانت تعد من الحالات اليائسة سابقاً، ولاحظ المختصون في علاج العقم بهذه التقنية ازدياد التشوهات الكروموسومية لدى الذرية الناتجة

ويبلغ عدد المرضى ذوي التأريخ العائلي الموجب لحصول قلة الخصوية باللانطفية و قلة النطف ١٦ (٧,٣٧%) و ٣ (٣,٢٦%) على التوالي (جدول٢).

جدول(٢) عدد و نسب حالات اللانطفية و قلة النطف ذوي التأريخ العائلي الموجب وغير الواضح للحالة.

الحالة	العدد	التأريخ العائلي الموجب للحالة		التأريخ العائلي غير الواضح للحالة	
		العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية
اللانطفية	٢١٧	١٦	٧,٣٧	٢٠١	٩٢,٦٣
قلّة النطف	٩٢	٣	٣,٢٦	٨٩	٩٦,٧٤

#### ٤-٢ تحليلات الهرمونات

أظهرت النتائج وجود ٢٤٨ حالة تعاني من اضطرابات هرمونية مختلفة (جدول ٣) وعلى هذا الأساس تم استبعاد هذه المجموعة بعد التأكد من خلوها من الاضطرابات الوراثية .

جدول(٣) عدد و نسب حالات اللانطفية و قلة النطف للهرمونات

المفحوصة للحالة.

الحالة	العدد	LH		FSH		TESTO		PRL	
		العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%
اللانطفية	١٨٩	٦٤	٣٣,٧	٦٨	٣٦,١	٣٥	١٨,٥	٢٢	١١,٧
قلّة النطف	٥٩	٢٣	٣٩	١٢	٢٠,٣	٨	١٣,٦	١٦	٢٧,١

#### ٤-٣ تحليلات الوراثة الخلوية :

تألّفت العينة المرضية التي تم تحليلها وراثياً ٦١ حالة (٤٣ حالة من مرضى اللانطفية و ١٨ حالة لمرضى وقلّة النطف ) ، مع ٤٠ حالة لذكور خصيين .

لقد أظهرت النتائج (جدول ٤) انعدام وجود تغيرات كروموسومية في مجموعة الذكور الخصيين (شكل ١) ، بينما سجلت الدراسة ٧ حالات (١٦,٢٨%) تشوهات كروموسومية عديدة وتركيبية في مجموعة المرضى المصابين باللانطفية (شكل ٢) وحالة واحدة (٥,٥٦%) في مجموعة المرضى المصابين بقلّة النطف(شكل ٣) .

جدول (٤) خلاصة بتحليلات الوراثة الخلوية لمجاميع قلة الخصوية

ومجموعة السيطرة .

ت	الحالة	العدد	أطوار استوائية طبيعية		أطوار استوائية غير طبيعية	
			العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية
١	اللانطفية	٤٣	٣٦	٨٣,٧٢	٧	١٦,٢٨
٢	قلّة النطف	١٨	١٧	٩٤,٤٤	١	٥,٥٦
3	السيطرة	٤٠	٤٠	١٠٠	-	-

إخوة الشخص المصاب خصبين كما هو ملاحظ في العينتين ١ و ٥٥ (اللانطفية ووهن النطف) وبعض إخوتهم لا يزالون صغار السن ولم يصلوا سن الإنجاب. وبينت دراسة [٣٣] حالة أب(مصاب) يعاني من قلة النطف لأربعة أولاد ذكور يعاني بعضهم من اللانطفية والبعض الآخر من قلة النطف ووجد أن الأب وأبناؤه الأربعة يعانون من الحذف في جين DAZ في منطقة AZFC من الكروموسوم الجنسي Y ، فسر الباحث إن لحذف جين DAZ نمطا مظهريا متنوعا حيث قد تعزى خصوبة الأب في مقتبل العمر الى انه كان يعاني من قلة النطف ولكون الزوجة ذات خصوبة عالية فتمكن من الإنجاب ،بينما أشار [٢٠] الى حالة انتقال الحذف الدقيق في الذراع الطويلة في الكروموسوم الجنسي Y من الأب الى أبنائه الثلاثة الذين يعانون من قلة الخصوبة ( اللانطفية وقلة النطف) فقد لوحظ إن الأب كان خصبا لفترة معينة بعد البلوغ، ويتقدم العمر بدأت خصوبته تقل وصولا الى حالة اللانطفية (وقت إجراء التحليل) فضلا عن السبب السابق فقد فسر [٣٣] خصوبة الآباء على اعتقاد كونهم حاملين لآليات معينة تقع على كروموسومات جسمية أو قد تكون مرتبطة بالكروموسوم الجنسي X، ويعتقد إنها قد تثبط أو تؤخر من تقدم قلة الخصوبة الناتجة عن الحذف الدقيق في منطقة AZFC، وقد ذكر [٣٤] حالة احد الأشخاص المصابين بقلة النطف الشديد واطهر التحليل الوراثي الخلوي انه يعاني من انتقال Translocation بين الكروموسوم الجنسي X والكروموسوم الجسمي ٢٠ (46,Y,t(X;20)(q10;q10) فقد ورث هذا التشوه من الأم ،وتمكن الشخص المصاب من الإنجاب باستعمال تقنية حقن النطفة داخل سايتوبلازم البيضة ICSI وكانت ابنته حاملة لنفس حالة الانتقال الكروموسومي .في حين وضع [٣٥] حالة توارث الانتقال بين الكروموسوم الجنسي Y والكروموسوم الجسمي ١ لدى عائلتين، فقد كان الشخص المصاب يعاني من قلة النطف وانتقل هذا التشوه خلال عدة أجيال وكانت الإناث حاملة لهذا الخلل بينما الذكور كانوا مصابين، علما إن هذا التشوه لم يؤثر في النمط المظهري لكلا الجنسين.

نستطيع أن نوضح إن لقلة الخصوبة أسباباً وراثية عديدة، فقد ينشأ نتيجة لخلل في أكثر من جين موجود في نفس الكروموسوم أو في كروموسومات أخرى [٢١]. لذا فإن قلة الخصوبة لدى الذكور من الأمراض المعقدة التي لا تخضع للوراثة المنديلية، وتظهر نتائج الدراسة الحالية إن الإصابة بقلة الخصوبة قد تشير إلى توارث الإصابة وإن هناك سريانا عائليا للمرض (قلة الخصوبة) ، وقد بين [١٤]. إن عوامل قلة الخصوبة لدى الرجال التي تعود لحصول إعاقة معينة في عملية إنتاج النطف تبدو بكونها متراكمة في العوائل وقد تكون موروثة في بعض الحالات، ولكن لا يوجد نمط توارث محدد شائع لتوارث قلة الخصوبة عند الرجال.

#### ٥-٢ تحليلات الوراثة الخلوية

أظهرت نتائج التحليلات الوراثة الخلوية لمرضى اللانطفية وجود التشوهات الكروموسومية بنسبة ١٦,٢٨% من الحالات المدروسة،

بهذه الطريقة العلاجية ، وأشارت دراسات الوراثة الخلوية إلى ازدياد نسبة التشوهات الكروموسومية لدى الذكور العقيمين (٥,٣%) مقارنة مع المجتمع العام (٠,٦%) [٣١] لذا جاءت هذه الدراسة محاولة لدراسة الجانب الوراثي لمرضى قلة الخصوبة للمصابين باللانطفية وقلة النطف من خلال دراسة نمط التوارث لقلة الخصوبة وبعض المتغيرات الفسجية ( الهرمونية ) والوراثية - الخلوية.

#### ٥-١ دراسة نمط التوارث باللانطفية وقلة النطف

لقد تم دراسة نمط التوارث باللانطفية وقلة النطف ومع أن عدد العوائل محط عناية هذه الدراسة قليل نسبيا إلا إن النتائج تبين إن نسبة مرضى اللانطفية ذوي التاريخ العائلي الموجب كانت ٧,٣٧% من مجموع الحالات المدروسة و كانت النسبة لمرضى قلة النطف ذوي التاريخ العائلي الموجب للإصابة ٣,٢٦% من مجموع حالات المرضى، ومن خلال دراسة سجل تحليل النسب لهؤلاء المرضى ذوي التاريخ الموجب للإصابة يمكن تفسير ظهور أكثر من حالة في نفس الجيل (الأخوة، أبناء العم، أبناء الخال) إلى العوامل الوراثية أو نتيجة العوامل البيئية، إذ إن أفراد العائلة الواحدة يعيشون في الظروف البيئية نفسها ويتعرضون إلى عوامل بيئية ومعيشية وسلوكية متشابهة، ويعتقد أن العوامل الوراثية والبيئية تشترك في إحداث هذه الإصابة، فهناك عدد من الجينات المتعددة التي قد تتداخل مع العوامل المختلفة لاستحداث هذا المرض متعدد العوامل [١٤]. وقد يعزى ظهور أكثر من حالة في نفس الجيل بالنسبة للمرضى المصابين بقلة الخصوبة (اللانطفية وقلة النطف) إلى كون الأم حاملة لخلل معين مرتبط بالكروموسوم X فيكون الذكور مصابين بهذا الخلل أما الإناث فتكون حاملة لهذا الخلل أي ما تسمى نمط التوارث المرتبط بالكروموسوم الجنسي X ، ومن المحتمل إن آليات الجين المسؤولة عن الإصابة قد تكون مندلية متنحية ومختفية تحت تأثير آليات سائدة جيلا بعد جيل، والأفراد الحاملين لهذا الاليل لا يمكن معرفتهم إلا بعد ظهور أبناء مصابين، ولهذا فإن الحالات التي يعتمد ظهورها على جينات متنحية تظهر أحيانا بصورة غير متوقعة في العائلات التي ليس لديها تاريخ عائلي واضح بالنسبة لهذه الحالة، خصوصا إذا تشابهت الظروف البيئية المختلفة التي تساعد على استحداث المرض لدى هذه العوائل [١٨،١٩،١٧]. وقد يكون الأب يعاني من خلل في جين جسي معين يعبر عن نفسه في الذكور ويعتقد إن للهرمونات الذكرية دورا في هذا التعبير الجيني (صفة متأثرة بالجنس)، مما يؤدي الى أن يكون نصف أبنائه الذكور مصابين ونصف عدد الإناث تكون حاملة لهذا الخلل، أو قد تكون الأم تعاني من خلل سائد في كروموسوم جسي معين قد ينتقل إلى أبنائها الذكور، فقد أشار [٣٢] إلى حالة اخوين مصاب احدهما باللانطفية والآخر بقلة النطف كونهما يعانين من الانقلاب حول المركز في الكروموسوم الأول (p34q23) (46,XY,inv(1) الذي ورثاه من الأم، أو قد يعزى السبب الى وجود خلل ما في الكروموسوم الجنسي Y والذي ينتقل الى جميع الذرية الذكور لكننا لم نتمكن خلال هذه الدراسة أن نحدد هذا النمط من التوارث لكون بعض

حجم العينة ونوعية المرضى، فضلا عن التغيرات الطبيعية بين الأفراد المصابين الذي يعود إلى تعدد الأسباب والعوامل التي تؤدي إلى هذه الحالات.

من خلال دراسة التاريخ التطوري للكروموسومات الجنسية (X و Y) والتي تطورت عبر بلايين السنين نجد في هذه الكروموسومات إن اغلب الجينات المسؤولة عن عملية إنتاج النطف تتجمع على الذراع الطويلة من الكروموسوم الجنسي Y، والبعض الآخر ينتشر في مناطق أخرى ضمن الجينوم البشري [٣٩]. تعزى اغلب حالات اللانطفية غير الانسدادية وقلّة النطف إلى الحذف الدقيق للجينات المحمولة على الذراع الطويلة من الكروموسوم الجنسي Y (Yq). أشار [٤٠] إلى وجود حذف دقيق في الذراع الطويلة للكروموسوم الجنسي (Yq) بنسبة ٨ % من الحالات التي شملت ٥٠٠٠ رجل يعاني بعضهم من اللانطفية والبعض الآخر من قلّة النطف. تتباين أسباب قلّة الخصوبة عند الذكور ويمكن أن تعتبر الطفرة في الجين المنظم CFTR والحذف الدقيق في منطقة AZFc في الذراع الطويلة للكروموسوم الجنسي Y، فضلا عن التشوهات الكروموسومية العددية من أهم أنواع التشوهات الوراثية الشائعة لدى الذكور المصابين باللانطفية وقلّة النطف [٣٩]. لذا يمكن أن يفسر بعض حالات قلّة الخصوبة عند الرجال ذوي النمط الوراثي الطبيعي XY، والتي لم يتمكن من تحديد التشوهات على المستوى الجزيئي، لعدم توافر الإمكانات اللازمة لإجراء هذه التحاليل الوراثية كما لاستبعاد حالات الحذف الدقيق في الجين المنظم والجينات المحمولة على الذراع الطويلة للكروموسوم الجنسي Y لمرضى اللانطفية وقلّة النطف لذوي النمط الوراثي الطبيعي (XY,46).

لقد تضمنت التشوهات الكروموسومية التي تم التحري عنها في دراستنا تشوهات كروموسومية عديدة في الكروموسومات الجنسية وهي 47,XXX، ذكر [٢٢] ان نسبة ٥,٥ % من الذكور المصابين باللانطفية وقلّة النطف يعانون من هذه المتلازمة وقد أشار [٣٢] إلى احتمالية ازدياد حدوث هذه المتلازمة ١٠-٣٠ ضعف نسبة حدوثها لدى الذكور قليلي الخصوبة، وقد تعزى حالة قلّة الخصوبة عند هؤلاء الذكور ذوي النمط الوراثي 47,XXX إلى تداخل الكروموسوم Y الإضافي مع وظيفة الكروموسوم الجنسي Y وبالتالي حدوث إعاقة في عملية إنتاج النطف [٤١].

تزداد التشوهات الكروموسومية في الخلايا الجرثومية (النطف) للمرضى المصابين بمتلازمة كلينفلتر، حيث يعتقد إن لازدياد تركيز هرمون محفز الجريبات FSH عند هؤلاء الذكور دورا سلبيا على بيئة الخصى وبالتالي حدوث تشوهات في عملية الانقسام الأختزالي للخلايا الجرثومية [٤٢]، أو حدوث أخطاء في عملية الازدواج الكروموسومي Chromosome Pairing أثناء عملية الانقسام الأختزالي للخلايا الجرثومية نتيجة وجود طفرات في بعض الجينات التي تنظم عملية الانقسام الأختزالي [٣١]. وتزداد نسبة النطف ذات النمط الوراثي 24,XY (1n+1) لدى الأشخاص ذوي النمط الوراثي المتنوع التركيب

بلغت نسبة التشوهات الكروموسومية لمرضى قلّة النطف ٥,٥٦ % بينما لم تلاحظ أي تشوهات كروموسومية عديدة أو تركيبية لدى مجموعة السيطرة. لقد أوضحت اغلب البحوث ازدياد نسبة التشوهات الكروموسومية لدى مرضى قلّة الخصوبة مقارنة بالرجال ذوي الخصوبة الطبيعية، أشار [٣٦] بدراسته للوراثية الخلوية لـ ١٢٠١ رجل يعانون من قلّة الخصوبة إلى وجود نسبة ٣,٦ % من التشوهات الكروموسومية في الكروموسومات الجسمية والجنسية لدى هؤلاء الأشخاص وقد ارتفعت هذه النسبة إلى ١٢ % في دراسة [٣٤] التي أجريت على ١٥٠ ذكراً يعانون من قلّة الخصوبة. بينما أشار [٣٢] إلى أن نسبة التشوهات الكروموسومية قد بلغت ٢,١ % من مجموع الحالات البالغة ٤٣٢ شخصا من الرجال الذين يعانون من قلّة الخصوبة. وبينت دراسة وراثية أخرى أجريت لـ ٧٨١ ذكراً يعانون من قلّة الخصوبة إن نسبة ١٣,١ % من هؤلاء المرضى يعانون من التشوهات الكروموسومية والتي شملت التغيرات الكروموسومية التركيبية حيث وجدت ٦ حالات انقلاب فضلا عن ١٤ حالة من الانتقال المتبادل Reciprocal Translocation و ٥ حالات من انتقال روبرتسن Robertsonian Translocation، بينما كانت هناك ٣٥ حالة ظهرت فيها تشوهات كروموسومية عديدة في الكروموسومات الجنسية [٣٦]. وأظهرت دراسة [٣٧] وجود تشوهات كروموسومية لدى ١٣٤ حالة أي بنسبة ٦,١ % من مجموع ٢١٩٦ رجلاً مصاباً بقلّة الخصوبة، وتضمنت هذه التشوهات الكروموسومية ٢٧ حالة انتقال متبادل بنسبة ١,٢٣ % و ١٨ حالة انتقال روبرتسن بنسبة ٠,٨٢ % و ٣ حالات انقلاب بنسبة ٠,١٣ % و ٧٣ حالة من التشوهات الكروموسومية العددية والتي تبلغ نسبتها ٣,٣٢ % بالإضافة إلى ١٣ حالة من الحذف الدقيق في الذراع الطويلة من الكروموسوم الجنسي Y (Yq) أي بنسبة ٠,٥٩ %. وأشارت دراسة [٣٦] إلى ظهور التشوهات الكروموسومية بنسبة ٣ % من مجموع ٢٠٠ رجل يعانون من قلّة الخصوبة، ووضحت إحدى الدراسات الوراثية [٣٨] التي أجريت على ١٥٠ مريضاً مصاباً باللانطفية وقلّة النطف إلى وجود تشوهات كروموسومية في العينات المأخوذة من ٣٦ مريضاً وتضمنت هذه التشوهات الكروموسومية منطقة AZFc من الذراع الطويلة للكروموسوم الجنسي Y والطفرة في الجين المنظم CFTR وتغيرات عديدة في الكروموسومات الجنسية فضلا عن حالة الانتقال، في حين وضح [٣٩] بدراسته الوراثية التي شملت ٣٣ مريضاً مصاباً باللانطفية و ١٧ مريض يعاني من قلّة النطف ووهن النطف وجود التشوهات الكروموسومية العددية في الكروموسومات الجنسية لدى مرضى اللانطفية أي بنسبة ٩ % من الحالات المدروسة، بينما لاحظ وجود التشوهات التركيبية في الكروموسومات الجسمية لدى مرضى قلّة النطف ووهن النطف بنسبة ٥,٨ % من الحالات. أشارت اغلب البحوث إلى احتمالية ازدياد نسبة التشوهات الكروموسومية عند الذكور المصابين بقلّة الخصوبة خصوصا لحالات اللانطفية وقلّة النطف، وتختلف نسبة هذه التشوهات من دراسة إلى أخرى ربما بسبب اختلاف

متغايرة كروموسوميا عند الأشخاص المصابين بوهن النطف والأشخاص الخصيين. ووضح [٤٨] ازدياد نسبة التشوهات الكروموسومية في الكروموسومات الجنسية والكروموسوم الجسمي ٢١ في الخلايا النطفية للمرضى المصابين باللانطفية الانسدادية وغير الانسدادية مقارنة بالخلايا النطفية للذكور الخصيين. ووضح [٤٩] وجود علاقة عكسية بين نسبة التشوهات الكروموسومية في الخلايا النطفية وتركيز النطف، فقد لاحظ ازدياد التشوهات الكروموسومية في الخلايا النطفية لمرضى قلة النطف الشديد مقارنة مع مرضى قلة النطف المعتدل (فقد يبلغ عدد النطف اقل من ١٥ مليون نطفة لكل ملي لتر من المنى). بينت نتائج إحدى الدراسات [٤٩] وجود تغيرات كروموسومية في الخلايا النطفية والتي كانت بنسبة ٣٣-٧٤% من تسعة مرضى مصابين بقلة ووهن وتشوه النطف، بينما كانت بنسبة ٤,١-٧,٧% لدى الذكور الخصيين، فقد كانت نسبة التشوه الكروموسومي في الخلايا النطفية لدى المرضى ضعف ما هو ملاحظ في الخلايا النطفية لدى الذكور الخصيين، وازدادت نسبة هذه التغيرات إلى ثلاثة أو أربعة أضعاف نسبة حدوثها في المرضى المصابين بقلة النطف الشديد مقارنة مع الذكور الخصيين. وان لوجود هذه التغيرات الكروموسومية دورا في اختزال معدل الحمل والإخصاب، مما يؤدي إلى قلة الخصوبة لدى هؤلاء الذكور.

Stromal cells of the Bovine Endometrium. Biology of reproduction;54: 371-379.

9- Moncada, S.; Flower, R.J. and Vane, R.J. (1980). Prostaglandins, prostacyclin and throm- boxanc A2. In: Goodman and Gilman's the pharmacological Basis of therapeutics. Ed. by Gilman, A.G.; Goodman, L.S. and Gilman, A. 6th edn. Macmillan publishing Co. Inc. New York, pp: 668-681.

10- Narumiya ,S.; and FitzGerald, G.A .(2000). Genetic and pharmacological an Analysis of prostanoid receptor function. J. Clin. Inves. 108 (1): 25 -30.

11- Conte, D.; Romanell, F.; Fillo, S.; Guidetti, L. Isidori, A.; Franceschi, F.; Latini, M. and Diluigi, L. (1999). Aspirin inhibits. Androgen response to chorionic gonadotropin in humans. AJP. Endo; 277: 1032-1037.

12- Kelley, R.W.; Cooper, I.; and Templeton, A.A .(1979). Reduced prostaglandin levels in the semen of men with very high sperm concentration. J. Reprod . Fertil . 59 : 195 .

13- Bartlewski, P.M.; Duggavathi, R.; Aravindashan, J.; Barvett, D.M.W.; Cook, S.J. and Rawlings, N.C. (2003). Effects of a6-day treatment with medroxyprogesterone acetal after prostaglandin  $F_{2\alpha}$  - Induced luteolysis at midcycle on antral follicular development and ovulation rate in nonprolific western white-faced ewes. Biology of Reproduction; 68: 1403-1412.

14- Gonsalves, J.; Sun, F.; Schlegel, P.N.; Turek, P.J.; Hopps, C.V.; Greene, C.; Martin, R.H. and Pera, R.

الكروموسومي 47,XXY/46,XY والأشخاص ذوي النمط الوراثي 47,XXY [٤٣].

تكون اغلب التشوهات الكروموسومية في الخلايا النطفية لدى المرضى المصابين باللانطفية وقلة النطف تغيرات عديدة في الكروموسومات الجنسية والكروموسوم الجسمي ٢١، حيث هذه الكروموسومات أكثر حساسية لعدم الانفصال Non disjunction مع بقية الكروموسومات الجسمية، والذي يعود إلى اختزال في الارتباط في الكروموسومات ذات الجسيم المركزي الطرفي Acrocentric chromosome مثل الكروموسوم ٢١ أو إلى وجود منطقة تصالب واحدة طرفية الموقع بين الكروموسومين الجنسيين X وY عند الانقسام الأختزالي الأول [٣١].

أشار [٤٧] إلى العلاقة بين التشوهات الكروموسومية في الخلايا الجسمية والخلايا الجرثومية، فقد كانت نسبة النطف ذات النمط الوراثي 24,XY و 24,YY اقل أو تساوي ١%، بينما كانت النسبة ٢٠ . ٢ % لدى الذكور المصابين بمتلازمة كليفنلتر 47,XXY في حين كانت النسبة ١,٥-٧% لدى الأشخاص ذوي النمط الوراثي المتنوع التركيب الكروموسومي Mosaic (47,XXY/46,XY)، وذكر أيضا ازدياد احتمالية إنتاج نطف متغايرة كروموسوميا خصوصا في الكروموسومات الجنسية لدى الأشخاص المصابين بقلة النطف أو تشوه النطف لذوي النمط الوراثي الطبيعي 46,XY، ولم تلاحظ نطف

#### المصادر References

- Hall, J.E. and Adair, T.A. (1998). Review physiology. Lippincott - Raven. Publishers. Philadelphia, New York. Pp. 241-244.
- Thonneau, P.; Marchand, S.; Tallec, A.; Ferial, M.; Ducot, B.; Lansac, J.; Lopes, P.; Tabaste, J. and Spira, A. (1991). Incidence and mian courses of infertility in resident population (185000) inhabitants of three French regions. Hum. Reprod.; 6:811-816.
- برنوطي، رمزي (٢٠٠١). الإنجاب والعقم لدى الذكور الأسباب والعلاج، الطبعة الأولى، وزارة الثقافة، دار الشؤون الثقافية العامة، بغداد.
- Garcia, J.E.; Nelson, L.M.; Wallach, E.E.; Zurawin, R.K.; Talavera, L.P.(2004). Infertility Medicine Instant Access to the mindes of Medicine. pp1-82.
- Kolettis,P.N.(2003). Evaluation of the subfertile men. Am.Fam.Ph.;1-11pp.
- Razvi K., S. Chew, E. L. Yong and J. Kumar, The Clinical anagement of Male Infertility, Sing. Med. J., 140, 04, (1999).
- Chia, S.E.; Ong, S.N.; Chua, L.; Ho, L.M. and Tay, S.K.(2000). Compation of zinc concentration in blood and seminal plasma and various sperm parameter between fertile and infertile men. J. of Androl.; 21:53-57.
- Asselin, E.; Goff, A.K.; Bergeron, H. and Fortier, M.A. (1996). Influence of sex steroids on the production of prostaglandins  $F_{2\alpha}$  and  $E_2$  and response to oxytocin in cultured epithelial and

- Egozcue , J.(2000). Human male infertility: chromosome anomalies, meiotic disorders , abnormal spermatozoa and recurrent abortion .Hum.Reprod.;6:93-105.
- 32- Meschede, D.; Downiczak, B.; Behre, H.M.; Nieschlag, E. and Horst, J.;(2000). No evidence for uniparental disomy of sex chromosome in idiopathic male infertility .Mol. Hum .Reprod.; 6:1-4.
- 33- Silber, J.S. and Repping, S.(2002). Transmsion of male infertility to future generations: lessons from the Y chromosome. Hum. Reprod.;8:217-229.
- 34- Ma, S.; Yuen, B. H.; Penaherrrer, M.; Koehn, D.; Ness, L. and Robinson, W.(2003).ICSI and the transmission of X- autosomal translocation: a three-generation evaluation of X;20 translocation: case report.Hum.Reprod.;18:1377- 382.
- 35-Morel,F.;Dugueperoux,I.;McElreavey,K.; Bris, M.J.; Herry, A.; Parent, P.; Martelot, M. and De Breakeleer, M. (2002). Transmission of an unbalanced (Y;1) translocation in Brittany, France. J. Med.Genet.;39:52-65.
- 36- Peschka, B.; Leygraaf, F.;Vandervan, K.; Montage, M.; Schartmann, B.; Schubert, R.; Vandervan ,K. and Schwanitz, G. (1999). Type and frequency of chromosome aberrations in 781 couples undergoing ICSI. Hum. Reprod.;14:2257-2263.
- 37- Gekas, J.; Thepot, F.; Turleau, C.; Siffroi, J.P.; Dadoune, J.P.; Wasels, R. and Benzachen ,B. (2001). Chromosomal factors of infertility incandidate couples for ICSI: an equal risk of constitutional aberration in woman and men .Hum Reprod.; 16:82-90.
- 38- Dohle, G.R.; Halley, D.J.; Vanhemel, J.; Vandennouwel, A.M.; Pieters, M.; Weber, R.and Gvaerts ,L.(2002). Genetic risk factors in infertile men with sever oligozoospermia and azoospermia. Hum. Reprod.; 17:13-16.
- 39- Silber, S.J.(1999). The disappearing male. Inc: Jansen R.; Motimer, D.,(eds.).Towards reproductive certainty-fertility and genetic beyond 1999.New York/ London: The Parthenon Publishing group,499-505.
- 40- Foresta, C.; Moro, E. and Ferlin, A.(2001). Prognostic value of Y Deletion analysis. Hum. Reprod.; 16:1543-1547.
- 41- Ho Lee, Y.H.; Kim, T.; Kim, M.H.; Kim, Y.H.; Kim, S.H.(2000).Y chromosome microdeletion in idiopathic azoospermia and non mosaic type of klinefelter syndrome. Exp. Mol. Med.; 32:231-234.
- 42-Morz,K.;Hassoold,T.and Hunt, P.(1999). Meiotic aneuploidy in the XXY mouse: evidence that compromised testicular environment increases the incidence of meiotic errors. Hum. Reprod.;14:1151-2156.
- 43- Wang, J.Y.; Samura, O.; Zhen, D.K.; Cown, J.M.; Cardone, V.; Summers, M. and Bianchi, D.W.(2000). FISH analysis of chromosomal Consituation in spermatozoa from mosaic 47,XYY/46,XY male. Mol. Hum. Reprod.;16:665-668
- A. R. (2004). Defective recombination in infertile men. Hum. Mol. Genet.; 13:2875-2883.
- 15- Silber, S.J.(1989).The relationship of abnormal semen parameter to male fertility. Hum. Reprod. ;4:947-953.
- 16- DeJueq, N. and Jagon, B.(2001).Virus in the mammlian male genital tract and their effect on the reproductive system. Microbio. Mol. Bio. Rev.; 65:208-231.
- 17- Mueller, R.F. and Young, I.D.(1998). Element of medical genetic .Harcourt Brace and Co. Limited. Hong Kong.
- 1٨- Themmen, A.P.N. and Huhtaniemi, I.T.(2000). Mutation of gonadotropines and gonadotropin receptors: elucidating the physiology and pathophysiology of pituitary gonadal function. Endocrin.Rev.;21:551-583.
- 19- Peterlin, B.; Kunej, T.; Sinkovec, J.; Gilgorievska, N. and Zern, B. (2002). Screening for Ychromosome microdeletion in 226 Slovenian subfertile men .Hum. Reprod.; 17:17-24.
- 20- Saut, N.; Terriou, P.; Navarro, A.; Levy, N. and Mitchell, M.J.(2000). The human Y chromosome genes BPY2, CDY1 and DAZ are not essential for sustain fertility. Mol. Hum. Reprod. ;6:789-793.
- 21- Gazavani, M.R.; Wilson, E.; Richmond, D.; Haward, P.; Klingsland, C. and Lewis-Jones, D. (2000). Role of mitotic control in spermatogenesis. Fertil.Steril.;74:251-255.
- 22- Kleiman, S.E.; Yogev, L.; Gamzu, R.; Hauser, R.; Botchan, A.; Lessing, I.; Paz, G. and Yavetz, H. (1999). Genetic evaluation of infertile men, Hum. Reprod.; 14:33-38.
- 23- World Health Organization(WHO)(1992). The influence of varicocele on parameters of fertility in alarge group of men presenting to infertility clinincs. Fertil.Steril.;pp:1289-1293.
- 24- Hiniting, A.(1989). Methods of semen analysis in and Assessment of human sperm fertilizing ability .Ph.D. thesis, Mishigan University.
- 25- SAPIN R., SIMON C(2001) “False hyperbrolactinemia corrected by the use of heterophilic antibody– blocking agent”. Clinical Chemistry, 47, n° 12, P. 2184– 2185
- 26- Yaseen, N.Y. ; Hummadi, A.M.A.; Tawfik, M.S. and Rasheed, S.R. (1999). Modified technique in Cytogenetic preraration of leukaemia. J. Nah. Univ. Siencie . 3: 175-180.
- 27- Yaseen, N.Y. (1990). Cytogenetic study of human colorectal cancer cells .Ph.D. Thesis. Univ. Sheffield.
- 28-IAEA.(International Atomic Energy Agency) ,(2001). Cytogenetic Analysis for radiation Dose Assessment A manual: Technical reports series no.405. Vienna, Austria.
- 29- Bogan,j. and Page,D.(1994). Ovary? Testes?-A mammalian dilemma.Cell.; 76:603- 607.
- 30- <http://www.smarttype.biz/>
- 31- Egozcue,S.; Blanco, J.; Venderll, J.M.; Garcia, F.; Veiga, A.; Aran, B.; Barri, P.N.; Vidal, F. and

- 47- Shi, Q. and Martin, R.(2001). Aneuploidy in human spermatozoa: FISH analysis in men with constitutional chromosomal abnormalities and in infertile men. *Reprod. ;* 655-666.(Aba)
- 48- Rodrigo, L.; Rubio, C.; Mateu, E.; Simon, C.; Remohi, J.; Pellicer, A. and Gil- Salm, M.(2004). Analysis of chromosomal abnormalities in testicular and epididymal spermatozoa from azoospermia ICSI patients by fluorescence in-situ hybridization. *Hum. Reprod. ;*19:118-123.
- 49- Martin, R.H.; Rademaker, A.W.; Greene, C.; Ko, E.; Hoang, T.; Barclay, L. and Chernos, J.(2003). A comparison of the frequency of sperm chromosome abnormalities in men with mild, moderate and severe oligozoospermia. *Bio. Reprod.;* 69:535-539
- 44- Nemeth, A.; Gallen, I.; Crocher, M.; Levy, E.; Maher, E.(2002). Klinefelter-like phenotype and primary infertility in a male with a paracentric XY inversion. *J.Med.Genet.;*39:28-42.
- 45- Gardner, D.K.; Wiessman, A.; Howles, C.M. and Shoham, Z.(2001). *Text Book of Assisted Reproductive Techniques.* Martin Dunitz Ltd, a member of the Taylor and Francis group.
- 46- Knietz, B.; Cohen, P.E.; Avdievich, E.; Zhu, L.; Kane, M.F.; Hou, H.; Kolodner, R.D.; Kuchelapati, R.; Pollard, J.W. and Edelman, W.(2000). Muts homolog 4 localization to meiotic chromosome is required for chromosome pairing during meiosis in males and females mice. *Gene. Develop.;* 14:1085-1097.

## Cytogenetic Study of Azoospermia and Sever Oligospermia in Al-Anbar Governorate

Samir M. Khalaf<sup>1</sup>, Adel F. Shehab<sup>2</sup>, Akeel H. Al-Asse<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Biology Dpt, Educ. College, Anbar Uni. ,*

<sup>2</sup> *Biology Dpt. , Science College Tekreet Uni. , Tekreet, Iraq*

(Received: 15 / 12 / 2010 ---- Accepted: 16 / 3 / 2011)

### Abstract

Seminal fluid analysis was carried out for ٣٠٩ samples of subfertile men from Al-Anbar Governorate. Samples were arranged in two groups according to the type of subfertility; the first group consisted of 217 azoospermia patients (%٧٠,٢٣), while the second group included 92 oligozoospermia patients (%٢٩,٧٧), in addition to 40 fertile men as control group.

This project also included the study of pedigree analysis for all subfertile men to determine the pattern of inheritance. Hormonal tests (Luteinizing Hormone, Follicle Stimulation Hormone, Prolactin Hormone, Testosterone Hormone) were carried to eliminate the abnormal patients. Cytogenetic analyses for 61 samples of peripheral blood lymphocytes were performed on 43 subfertile men (azoospermia) and 18 (severe oligospermia), in comparison with 40 cases of fertile men.

The results showed the presence of familial continuity with genetic familial relationship in the studied samples. The frequency of families with positive family history were 16 (%٧,٢٧) and 3 (%٣,٢٦) in azoospermia and oligozoospermia patients, respectively.

The study showed the presence of hormonal disorders in 248(80.26%) cases of subfertility, so they were eliminated from the study.

The Cytogenetic study of peripheral blood lymphocytes for subfertile men showed the presence of some chromosomal aberrations in (16.28%) and (5.56%) of azoospermia and oligozoospermia patients respectively. However, chromosomal aberrations in the control group were not detected.

**Key words:** Cytogenetics, Azoospermia, Oligospermia