

خبين الصبغي Y لدى مرضى انعدام النطاف وعلاقته مع الإِنطاف

الدكتور مروان الحلبي*

الملخص

خلفية البحث وهدفه: تشكل الخيون (الحدوفات) الصغرية microdeletions للصبغي Y والشاملة لموقع عامل اللانطفية azoospermic factor (AZF) السبب الوراثي الأكثر شيوعاً لفشل الإِنطاف. ومع عدم وجود إجماع علمي مطلق على العلاقة بين نمط الخبن الصغري والخلل الناجم عنه في عملية الإِنطاف، إذ يفقد الخبن الشامل للموضع AZFa غالباً إلى متلازمة خلايا سيرتولي الوحيدة، كما يسبب خبن الموضع AZFb توقفاً في الانقسام الانتصافي الأول محدثاً توقفاً في نضج النطاف، في حين ينتج عن خبن الموضع AZFc نقص متفاوت في الإِنطاف. هدَفَ هذا البحث إلى دراسة انتشار الخيون الصغرية للصبغي Y وأنماطها لدى مرضى انعدام النطاف غير الانسدادي المجهول السبب في عينة من مجتمعنا العربي السوري، وعلاقة كل نمط منها مع إمكانية الحصول على النطاف من الخصية.

مواد البحث وطرائقه: نمط الدراسة: دراسة مقطعية cross sectional. عينة الدراسة: 393 مريضاً مصاباً بانعدام النطاف غير الانسدادي المجهول السبب. مدة الدراسة: من شباط 2009 إلى شباط 2012. مكان الدراسة: قسم التشريح والنسج والجنين - كلية الطب البشري، مشفى الشرق للإخصاب. المقاربات السريرية: فحص السائل المنوي، دراسة النمط الصبغي، اختبار كشف خبون الصبغي Y بواسطة تقانة تفاعل سلسلة البوليميراز (PCR) وعملية استخراج النطاف من الخصية.

النتائج: بلغت نسبة انتشار الخبن الصغري للصبغي Y 14% (55/393) من مجموع حالات انعدام النطاف غير الانسدادي المجهول السبب. وقد كان خبن الموضع AZFb هو الأكثر شيوعاً 49% (27/55) تلاه خبن المواضع AZFc و AZFd و AZFa على الترتيب. تم العثور على النطاف الخصيوية في 11 حالة (57.9%) من خيون الموضع AZFc فقط، في حين كانت النطاف الخصيوية غائبة في بقية الخيون، لذلك فإن وقوع الخبن في الموضع AZFc يترافق مع زيادة الأرجحية في العثور على النطاف بالخصيتين.

الاستنتاج: لما كان الخبن الصغري للصبغي Y يشكل نسبة عالية من مجمل حالات انعدام النطاف غير الانسدادي المجهول السبب، اقترحنا بقوة الحاجة إلى إجراء الاستشارة الوراثية والفحوصات البيولوجية الجزيئية في حالات انعدام النطاف غير الانسدادي المجهول السبب كلها، خاصة قبل إتباع تقانات الإخصاب المساعد؛ لما لذلك من أهمية في وضع الإنذار الدقيق، والتدبير المناسب لمثل هذه الحالات.

الكلمات المفتاحية: اللانطفية، الصبغي Y، الخبن، AZF، استخراج النطاف.

* مدرس - قسم التشريح والنسج والجنين - كلية الطب البشري - جامعة دمشق.

Y-Chromosome Microdeletion in Azoospermic Patients and its Relationship with Spermatogenesis

Marwan Alhalabi*

Abstract

Background& Objective: Microdeletions of the Y-chromosome removing the azoospermia factor (AZF) region are the most frequent molecular genetic cause of spermatogenic failure. Although there is still no definitive consensus on the relationship between the type of microdeletion and the resulting sperm defect, microdeletions in AZFa lead mostly to Sertoli cell only syndrome, mutations in AZFb provoke interruption in meiosis I and mutations in AZFc result in hypospermatogenesis. Our objective is to evaluate the frequency and types of Y-chromosome microdeletions in patients with idiopathic non-obstructive azoospermia (NOA) and its relationship with successful sperm retrieval.

Materials & Methods: Study design: cross sectional study.

Participants: 393 males with NOA.

Duration: from February 2009 to February 2012.

Setting: Department of anatomy, histology and embryology – Damascus University, and Orient Hospital.

Clinical Intervention(s): Semen analysis, karyotype, Y-chromosome microdeletion testing by polymerase chain reaction (PCR) and testicular sperm extraction (TESE).

Results: The frequency of Y-chromosome microdeletions was 14% (55/393), and microdeletion in the AZFb region were the most prevalent 49.1% (27/55), followed by the AZFc, ADFd and AZFa. Spermatozoa were retrieved in 11 cases (57.9%) of microdeletions in AZFc region, and were absent in all other microdeletions. Therefore, the presence of an AZFc microdeletion was associated with increased likelihood of sperm retrieval.

Conclusion: The high prevalence of Y-chromosome microdeletions (14%) in our study strongly suggests the need for routine molecular genetic testing and counseling prior to assisted reproduction in idiopathic NOA, interestingly the successful sperm retrieval was only found in microdeletions located in sub-region of azoospermia factor (AZFc).

Keywords: azoospermia; Y-chromosome; microdeletion; AZF; sperm retrieval.

*Instructor- Department of histology Embryology and Anatomy- Faculty of Medicine- Damascus University.

خلفية البحث وهدفه:

يعرف العقم بأنه عدم القدرة على الحمل والإنجاب بعد سنة من الزواج مع علاقات جنسية غير موقاة. وقد أصبح مشكلة سريرية شائعة تصيب 10 - 15 % من الأزواج في سن النشاط التناسلي^{1,2,3,4}. يختلف انتشار ظاهرة العقم بشكل واسع، فهو أقل في الدول المتقدمة وأكثر في البلدان النامية حيث تكون وسائل المقاربة السريرية والعلاجية والتشخيصية أقل توافراً⁵. يشغل العامل الذكري في العقم نحو 40 - 50 % من الحالات وهو متعدد الأسباب التي يمكن أن تكون مجهولة في معظمها، أو خلقية أو وراثية أو مكتسبة^{2,3,4,6}. يعرف انعدام النطاف (اللانطفية) أو Azoospermia بأنه الغياب التام للنطاف ضمن السائل المنوي، ويشكل انعدام النطاف 10-15 % من مجمل حالات العقم الذكري المترافق بشذوذات في فحص السائل المنوي⁷ يصنف انعدام النطاف إلى انسدادية Obstructive وغير انسدادية non-obstructive بشكل عام ومع أن التصنيف السريري الذي يعبر عن الآلية المرضية له يشمل: انعدام النطاف قبل الخصيوي Pre-testicular ، وخصيوي testicular ، وبعد خصيوي Post-testicular^{8,9}.

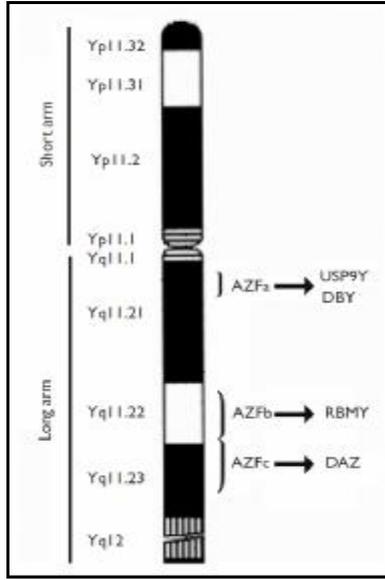
قدم Tiepolo and Zuffordi أول دليل على أن الجزء الرئيس من الذراع الطويل للصبغي Y يكون ضرورياً للخصوبة عند الرجال وعرضا 6 حالات من العقم الذكري لديهم خبن (حذف) deletion في الذراع الطويل للصبغي Y¹⁰. تتالت الدراسات بعد ذلك حتى بات الخبن الصغري Micro deletion للذراع الطويل من الصبغي Y يشكل السبب الوراثي الجزئي الأكثر شيوعاً لانعدام النطاف إذ راوحت نسبته بين 6 - 16 % من مجمل الحالات^{11,12,13,14,15}. وقد تبين أن المورثات المتوضعة على القسم القريب من الذراع الطويل (Yq11) للصبغي Y

(ضمن المنطقة السوية الكروماتين Euchromatin) تؤدي الدور المهم في عملية الإنطاف Spermatogenesis، وقد رتبت هذه المورثات ضمن موضع عامل اللانطفية Azoospermic factor locus الذي قسم لاحقاً إلى ثلاث مناطق Regions غير متراكبة هي: AZFc ، AZFb ، AZFa كما هو موضح في الشكل (1). وحديثاً اقترح وجود منطقة رابعة دعيت AZFd تقع بين منطقة ال AZFb و AZFc^{16,17,18}. يوجد في منطقة ال AZFa مورثتان رئيستان: DFFRY و DBY كما يوجد في منطقة ال AZFb ثلاث مورثات: RBMY و PRY و CDY2 التي يعبر عنها في الخصية فقط، في حين يحتوي الموضع AZFc على ثمان مورثات هي: DAZ ، CDY ، BPY2 ، TTY 4.1 ، TTY 3.1 ، GOLGAZLY ، CSPG4LY ، وعلى كل حال 7.1 خمس منها يعبر عنها فقط بالخصية. وعلى كل حال مازال الغموض يكتنف كثيراً من الدور الحقيقي لهذه المورثات في عملية الإنطاف^{19,20}.

وفي المدة الأخيرة يسمح التطور في تقانات الإخصاب المساعد Assisted reproduction خاصة تقنية استخراج النطاف من الخصية Testicular sperm extraction (TESE) والحقن المجهري لها ضمن هيولى البيضة Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) لهؤلاء المرضى بحدوث الإلقاح الناجح والحمل التطوري^{23,24,25}.

مما أبرز للعيان خطورة نقل الشذوذ الوراثي (الخبن الصغري للصبغي Y) إلى الأبناء الذكور مسبباً استمرار حالة نقص الخصوبة إلى الجيل اللاحق^{27,28}.

²⁶ ومع عدم وجود إجماع علمي مطلق على العلاقة بين نمط الخبن الصغري والخلل الناجم عنه في عملية الإنطاف إذ يقود الخبن الشامل لمنطقة ال AZFa غالباً إلى متلازمة خلايا سيرتولي الوحيدة Sertoli cell only syndrome



الشكل (1) - يوضح مناطق الخبن في الموضع AZF على الصبغي Y [69]

أخذت الموافقة المستنيرة Informed consent من المرضى كلهم بحسب الأصول، واستخدم برنامج Medcalc version12 في التحليل الإحصائي مع عدّ قيمة $P < 0.05$ معتدلاً بها إحصائياً، وقد استكملت دراسة المرضى بإجراء ما يأتي:

فحص السائل المنوي:

أجري بحسب معايير منظمة الصحة العالمية WHO³² مرتين على الأقل بفواصل شهر بعد إمساك عن القذف Ejaculation مدة 3 - 5 أيام، وتم التأكد من خلو السائل المنوي من النطاف بإجراء التنقيط مدة ربع ساعة بسرعة 3000 دورة /د، ثم فُحصتِ الثقالة وتأكَّد من عدم وجود النطاف بها.

دراسة النمط الصبغي Karyotype:

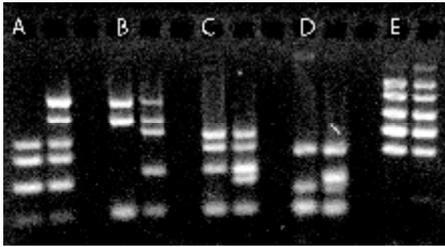
أُجريتِ دراسة النمط الصبغي للمرضى على عينات من الدم المحيطي المسحوبة على الهيبارين . باستخدام تقانة الزرع الخلوي للمفاويات التائية مدة 72 ساعة مع ال Phytohemagglutinin كمرض انقسامي متبوع بالحصاد الخلوي بحسب الطرائق المعيارية. لُوِّتِ

(SCOS)، كما يسبب خبن المنطقة AZFb توقفاً في الانقسام الانتصافي الأول محدثاً توقفاً في نضج النطاف Maturation arrest، في حين ينتج عن خبن المنطقة AZFc نقص متفاوت في الإنطاف يراوح من انعدام النطاف Azoospermia إلى ندرة النطاف وقلتها Oligospermia²⁹. 30, 31. هدَفَ هذا البحث إلى دراسة أنماط الخبن الصغري ونسب انتشاره Microdeletion لدى مرضى انعدام النطاف غير الانسدادي المجهول السبب Idiopathic Non-Obstructive Azoospermia (NOA) في عينة من مجتمعنا العربي السوري، وعلاقة كل نمط منها مع إمكانية الحصول على النطاف من الخصية، ومن ثمَّ إمكانية إدراجه ضمن برامج الإخصاب المساعد .

المواد والطرائق:

حُصِدَ 393 مريضاً مصاباً بانعدام النطاف غير الانسدادي المجهول السبب في دراسة مقطعية Cross sectional أجريت في المدة الواقعة بين شباط 2009 وشباط 2012 في قسم التشريح والنسج والجنين - شعبة الجنين والوراثة بكلية الطب - جامعة دمشق، ومشفى الشرق للإخصاب بدمشق. وقد راوحت أعمار المرضى بين 20 - 59 سنة ($mean \pm SD = \pm 7.36$). أُخِذَتْ قصة سريرية طبية مفصلة شخصية وعائلية من كل مريض مع إجراء فحص فيزيائي دقيق للتأكد من سلامة الأعضاء التناسلية تشريحياً، وقد أُقْصِي من الدراسة المرضى الذين يحملون في سوابقهم قصة تعرض لمعالجة كيماوية أو شعاعية أو جراحية تناسلية أو دوائية مؤثرة في الإنطاف أو غدية صماوية. ارتكز تشخيص انعدام النطاف غير الانسدادي على قاعدة من الموجودات السريرية والهرمونية (ارتفاع الهرمون المنبه للجريبات (FSH) والمخبرية (انعدام النطاف بالسائل المنوي) بعد نفي الأسباب والأمراض المعروفة بتأثيرها في الإنطاف.

الانقسامات الخلوية بطريقة GTG ودرست مجهرياً. درست الصبغيات عددياً وبنوياً في عشرين انقساماً لكل مريض، ووصف النمط الصبغي في كل منها بحسب (ISCN2009) an international system for human cytogenetic nomenclature karager 2009 . مع مراعاة مضاعفة هذا العدد لدى الكشف عن وجود نسيلة خلوية شاذة بهدف تحديد نسبتها بشكل دقيق. كما وثقت الدراسة المجهرية لكل المرضى حاسوبياً بشكل كامل.



الشكل (2) - يظهر خبن AZFc+d

عملية استخراج النطاف من الخصية :

بعد التأكد من انعدام النطاف بالسائل المنوي أُجريت البحث عن النطاف بالرشف بالإبرة الدقيقة Fine Needle Aspiration(FNA) أو ما يسمى بالخريطة الخصوية Testicular mapping، وذلك بإدخال إبرة خاصة بقياس (19-20) إلى النسيج الخصوي عبر جلد الصفن تحت التخدير الموضعي أو العام، ثم الرشف تحت الضغط، ويجري ذلك في ستة أماكن على الأقل من كل خصية، ثم توضع الرشافات في أنابيب اختبار حاوية على وسط (Sperm preparation media , Medicult®) ومحضونة سابقاً في حواضن خاصة بدرجة حرارة 37 و CO2 بتركيز 5% مدة ساعتين على الأقل. تفحص الرشافات بعد ذلك تحت المجهر الضوئي بتكبير X20 و X40 بغية تحري النطاف، وفي حال عدم العثور على النطاف الناضجة تجرى عملية الاستخراج بالشق العرضاني على اللقافة البيضاء إذ يجري تمييز النبيبات الناقلة للمني Semeniferrous tubules واستخراجها وفحصها بالتدريج⁴⁷

48.

الدراسة الجزيئية Molecular study:

استُخلص الحمض النووي المنقوص الأكسجين DNA من عينات الدم المحيطي المسحوبة على ال EDTA باستخدام طاقم (QIAGEN, Germany) QIAamp DNA blood mini kit، قيس تركيز ونقاوة ال DNA المستخلص باستخدام جهاز (Eppendorf - Germany) BioPhotometer Plus، أُجريت تفاعل البوليميراز التسلسلي PCR على عشرين موقعاً جينياً مميزاً التسلسل (STS Sequence tagged sites markers) على الصبغي Y لكل مريض باستخدام الطاقم Y - chromosome deletion detection system , version 2 (promega , USA) kit للمواقع الآتية:

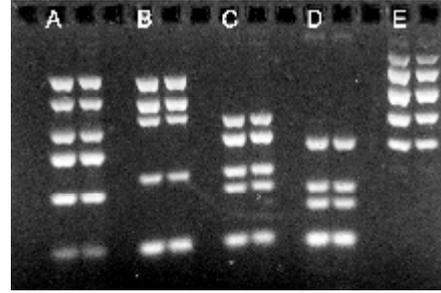
SY81, SY86, SY84, SY182 (AZFa).
SY121, SYPR3, SY124, SY127, SY128, SY133, SY134, (AZF b).
SY242, SY208, SY254, SY255, SY157, (AZF c).
SY145, SY152, Proximal AZF c (AZFd) .
SY14(SRY).

أُجريت خمس تفاعلات Multiplex PCR لكل مريض على جهاز (Eppendorf, Germany) mastercycler® thermal cycler machine وفق البرنامج الآتي:

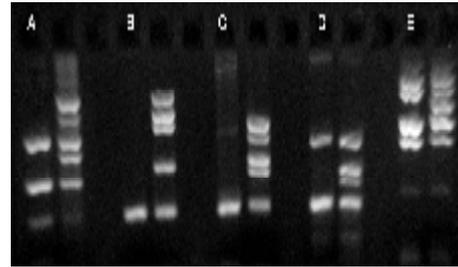
94°C for 2 minutes
94°C for 1 minutes
57°C for 30 seconds
72°C for 1 minutes(35 cycles)
72°C for 5 minutes

أُجريت الرحلان الكهربائي لنواتج ال PCR على هلامه الأغاروز بتركيز 3% (Promega- LMP agrose gel USA) . باستخدام وقاء 1X TBE المحتوي على

تبعاً لمنطقة الإصابة بحسب الجدول رقم(1) والمخطط رقم (1): وقد كان الخبن الصغري للمنطقة AZFb من الصبغي Y هو الأكثر شيوعاً 49 % (27/55) بما في ذلك الحالات المعزولة والمشاركة، وتلاه المناطق AZFc و AZFd و AZFa على الترتيب كما هو موضح بالمخطط رقم (3) الذي يظهر توزع أنماط الخبن الصغري وفقاً للمنطقة المصابة بعد دمج الحالات المعزولة والمشاركة. جرى العثور على النطاف الخصيوية الناضجة في 11 حالة فقط من حالات الخبن الصغري للمنطقة AZFc بنسبة 57.9 % (11/19)، في حين كانت النطاف الخصيوية غائبة تماماً في بقية أنماط الخبن الصغري الأخرى، ممّا يدلُّ على أن وقوع الخبن الصغري في المنطقة AZFc يترافق مع زيادة الأرجحية في العثور على النطاف الناضجة من الخصيتين.



الشكل (3) - يظهر الصبغي Y الطبيعي دون خبن .



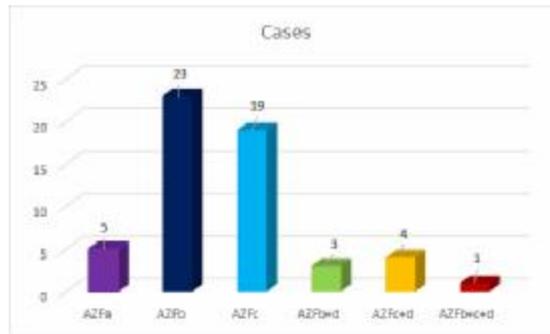
الشكل (4) - يظهر خبن AZFb+d+c

النتائج:

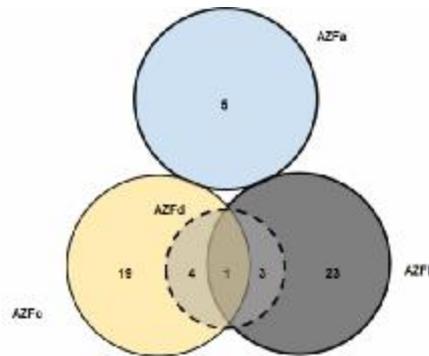
بلغت نسبة انتشار الخبن الصغري للصبغي Y: 14% من مجموع حالات انعدام النطاف غير الانسدادي المجهول السبب، وقد توزعت حالات الخبن

الجدول (1) يظهر توزع حالات الخبن الصغري للصبغي Y بحسب منطقة الإصابة لدى مرضى الدراسة.

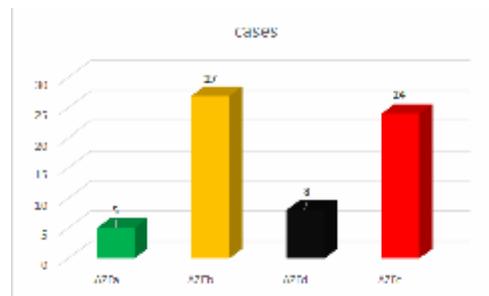
AZF regions	AZFa	AZFb	AZFc	AZFb+d	AZFc+d	AZFb+c+d	sum
Cases	5	23	19	3	4	1	55
Percentage%	9.1	41.8	34.5	5.5	7.3	1.8	100



المخطط (1) يظهر توزع حالات الخبن الصغري للصبغي Y بحسب منطقة الإصابة لدى مرضى الدراسة.



المخطط (2) مخطط Venn يوضح توزيع حالات الخين الصغري للصبغي Y تبعاً لمنطقة الإصابة لدى مرضى الدراسة إذ نلاحظ حالة واحدة شاملة للمناطق الثلاث : AZFb+d+c وثلاث حالات تشمل المناطق AZFb+d ، وأربع حالات تشمل المناطق AZFc+d .



المخطط (3) يظهر توزيع حالات الخين الصغري للصبغي Y بحسب منطقة الإصابة لدى مرضى الدراسة بعد دمج الحالات المعزولة والمشاركة.

المناقشة والاستنتاج:

اختلفت نسب توزع أنماط الخين الصغري للصبغي Y من دراسة إلى أخرى، فقد اقترح أن خبن المنطقة AZFc هو الأكثر تردداً (60%)، تلاه AZFb (35%)، أما ال AZFa فهو نادر الحدوث فعلياً (5%) ومعزولاً³⁸. وفي دراستنا لوحظ خبن المنطقة AZFa في 5 حالات (9.1%) والحالات جميعها كانت معزولة. وشوهد خبن المنطقة AZFb في 27 حالة (49%) إذ كان هذا النمط هو الأكثر شيوعاً، وقد كان معزولاً في 23 حالة، أو مشتركاً في 4 حالات مع خبون أخرى.

أما خبن المنطقة AZFc الذي يعدُّ الخبن الأكثر شيوعاً في معظم الدراسات العالمية والذي يشتمل على عائلة مورثات ال (DAZ) Deletion in Azoospermia gene family التي تتألف من أربع أليلات DAZ1 , DAZ2 , DAZ3 , DAZ4

تحدثت تقارير علمية عديدة عن نسبة انتشار الخين الصغري للصبغي Y بين مرضى انعدام النطاف غير الانسدادي التي راوحت سابقاً بين 1% - 55% عبر العالم، إلا أن معظم الدراسات أشارت إلى أن نسبة الانتشار هذه راوحت بين 5 - 15%²⁹. وفي دراستنا هذه تقدر النسبة بـ 14%، وهي تتوافق مع معظم الدراسات العالمية التي رتبنت في الجدول (2). تعزى هذه الفروقات إلى الاختلافات في نمط الدراسة وحجم عينة المرضى المدروسة فضلاً عن معايير اختيار المرضى، وربما تكون ناتجة عن الفروقات العرقية Ethnic variations والجغرافية الإقليمية أو البيئية المكتسبة^{29, 23, 3}.

عليها في بقية أنماط الخبن المعزولة والمشاركة، وهذا يتوافق مع دراسات عديدة أظهرت بأنه يمكن الحصول على نطاف ناضجة في 50 - 70 % من مرضى خبن المنطقة AZFc من الصبغي Y^{65,45}، ويختلف مع بعضها الآخر. وبذلك استنتجنا أن الخبن التام لمناطق ال AZFa و AZFb و AZFb+d و AZFb+c يترافق حكماً مع انعدام النطاف بالسائل المنوي دون إمكانية الحصول على النطاف من الخصيتين، مما يوفر عليهم عناء أي تدخل جراحي لهذه الغاية لاحقاً. وبالمقابل فإن خبن المنطقة AZFc يترافق مع زيادة الأرجحية في الحصول على النطاف من الخصيتين، ومن ثمّ إمكانية إدراجهم ضمن برامج الإخصاب المساعد. لذلك من المهم جداً تمييز منطقة الخبن الصغرى للصبغي Y قبل إجراء الاستشارة الإخصابية وهذا مانصحت به الجمعية الأمريكية لطب الإخصاب ASRM وأدخلته ضمن قواعد الممارسة الطبية الأساسية لديها^{27, 46}.

لذلك نوصي بإجراء الدراسة الجزيئية لتحري الخبن الصغرى للصبغي Y في حالات انعدام النطاف غير الانسدادي المجهول السبب كلها وذلك للأسباب الآتية:

1. إن معرفة الاختبار الإيجابي سوف يزودنا بالتشخيص الدقيق لمشكلة الزوج، مما يساعد على تفهم المشكلة ويساعد على حلها إن أمكن.
2. إن معرفة نمط الخبن ومنطقته يمكن أن يساعد الطبيب السريري على وضع الإنذار وتقرير التقانة المثلى للإخصاب المساعد اللازم.
3. يجب أن يعلم هؤلاء المرضى بشكل واضح أن نريتهم الذكور سوف يحملون الخبن نفسه (المشكلة نفسها)، ومن ثمّ سيحملون حالة العقم نفسها، مما يستدعي التقييم الباكر لحالتهم الإخصابية.

^{33, 34} فقد اقترح أن DAZ1 و DAZ2 لهما الأهمية الأكبر في عملية الإنطاف إذ شوهد DAZ3 و DAZ4 في ذكور مخصبين³⁵. وقد لوحظ خبن المنطقة AZFc في 24 حالة (43.6%) وقد كان هذا الخبن معزولاً في 19 حالة، ومشاركاً في 5 حالات. أمّا خبن المنطقة AZFd فقد شوهد في 8 حالات (14.5%)، والحالات كلها كانت مشتركة دون وجود أية حالة معزولة، إذ يعتقد حالياً أن واسمات المنطقة AZFd STS التي تشمل (SY145 و SY152) تتوضع ضمن المنطقة AZFc، وأن وجود هذه المنطقة بشكل مستقل مازال مثاراً للجدل وغير موجود فعلياً^{11, 36}. ونتائج خبن هذه المنطقة في دراستنا تتوافق مع ذلك³⁷.

لما كان خبن المنطقة AZFb هو الأكثر شيوعاً في منطقتنا استنتجنا أن المورثات المتوضعة في هذا الموقع التي تشمل بشكل رئيس (RBM1 و PRY و CDY2) التي يعبر عنها خصيصاً هي المسؤولة عن العقم وفشل الإنطاف بشكل جوهري ضمن مرضى منطقتنا، وهذا يتوافق مع التقارير العلمية القادمة من إيران وشنغهاي^{53, 67} ويختلف مع بقية الدراسات التي أظهرت أن المورثات المتوضعة بالموقع AZFc هي الأكثر شيوعاً ومسؤولة عن العقم وفشل الإنطاف^{38, 39, 40}.

مع أن معظم حالات خبن الصبغي Y شوهدت كحوادث جديدة *de novo*^{10, 43, 42, 41} سجلت بعض الحالات النادرة جداً الموروثة بشكل طبيعي^{27, 44}. ونحن نعتقد أن معظم حالات الخبن في دراستنا كانت حوادث جديدة *de novo* بسبب أن جميعهم كانوا قادمين من حمل عفوية طبيعية، ولم نتمكن بالحقيقة من إجراء الدراسة الجزيئية إلا لسبعة من آبائهم وكانوا جميعاً يحملون صبغي Y سليماً. استُخْرِجَتِ النطاف الخصيوية الناضجة في دراستنا من 11 حالة من مرضى خبن المنطقة AZFc المعزول بنسبة 57.9% (11/19) فقط، في حين لم يتمكن من العثور

4. يجب أن يعرض على هؤلاء المرضى الخاضعين لبرامج الإخصاب تقنية التشخيص الوراثي قبل التعشيش Pre- implantation genetic diagnosis (PGD) لاختبار جنس الجنين الأنثى التي سوف تكون سليمة وراثياً⁴⁸. وفي الختام استنتجنا أنه لما كان الخبن الصغري للصبغي Y يشكل نسبة عالية من مجمل حالات انعدام النطاف غير المناسب لمثل هذه الحالات.

الجدول (2)

مراجعة للأدب الطبي عن الخبن الصغري للصبغي Y عند مرضى انعدام النطاف غير الانسدادي المجهول السبب .

Author	Year	Region	Cases	Y-microdeletions (n/%)	Most prevalent pattern
Kremer et al [49]	1997	Netherlands	19	9 (47.4)	AZFc
Foresta et al [50]	1998	Italy	18	10 (55.6)	AZFc
Rucker et al [51]	1998	USA	183	17 (9)	AZFc
Kleiman et al [12]	1999	Palestine	105	7 (6.7)	AZFc
Dohle et al [52]	2002	Netherlands	37	3 (8.1)	AZFc
Tse et al [53]	2002	Hong Kong	59	5 (8.5)	AZFc
	2002	Shanghai	135	9 (6.7)	AZFb
SaoPedro et al [54]	2003	Brazil	29	2 (6.9)	AZFc
Vicdan et al [14]	2004	Turkey	119	17 (14.3)	AZFc
Roa et al [55]	2004	India	99	11 (12)	AZFc
Zhou-Cun et al [56]	2006	China	256	38 (14.8)	AZFc
Pina-Neto et al [57]	2006	Brazil	60	4 (6.7)	AZFc
Omran et al [40]	2006	Azerbaijan	60	18 (30)	AZFc
Vutyavanich et al [23]	2007	Turkey	50	5 (10)	AZFc
Arruda et al [58]	2007	Brazil	23	10 (43.5)	AZFa
Imken et al [59]	2007	Morocco	48	4 (8.3)	AZFc
Malekasgar et al [60]	2008	Iran	31	16 (51.2)	AZFc
Martinez-garza et al [55]	2008	Mexico	50	6 (12)	AZFc
Balkan et al [2]	2008	Turkey	52	1 (1.9)	AZFc
Ceylan et al [62]	2009	Turkey	30	5 (16.7)	AZFc
Ng et al [63]	2009	Hong Kong	71	6 (8.5)	AZFc
Kumtepe et al [64]	2009	Turkey	1214	115 (9.5)	AZFc
Stahl et al [65]	2010	USA	1153	120 (10.4)	AZFc
Wang et al [66]	2010	Northeastern China	219	20 (9.2)	AZFc

Mirfakhraie et al [67]	2010	Iran	100	12 (12)	AZFb
Behulova et al [68]	2011	Slovakia	239	8 (3.6)	AZFc
Total			4680	506 (10.8)	AZFc
Our Study	2013	Syria	393	55 (14)	AZFb

References

1. Sherrod RA. Understanding the emotional aspects of infertility: Implications for nursing practice. *J. Psychosocial Nurs. Mental Health Services* 2004;42: 40-7
2. Balkan M, Tekes S, Gedik A. Cytogenetic and Y chromosome microdeletion screening studies in infertile males with Oligozoospermia and Azoospermia in Southeast Turkey. *J Assist Reprod Genet.* 2008;25:559–65.
3. Zhu YJ, Liu SY, Wang H, Wei P, Ding XP. The prevalence of azoospermia factor microdeletion on the Y chromosome of Chinese infertile men detected by multi-analyte suspension array technology. *Asian J Androl.* 2008;10(6):873–81.
4. World Health Organization. Towards more objectivity in diagnosis and management of male fertility. *Int J Androl.* 1987;7(Suppl):1– 53.
5. Cates W, Farley TM, Rowe PJ. Worldwide patterns of infertility: Is Africa different? *Lancet* 1985; 2:596-8.
6. bramsson L, Beckman G, Duchek M, Nordenson L. Chromosomal aberrations and male infertility. *J. Urol* 1982;128:52-3.
7. Ezeh UIO. Beyond the clinical classification of azoospermia. *Hum Reprod* 2000; 15 : 2356-9.
8. Sharif K. Reclassification of azoospermia: The time has come? *Hum Reprod* 2000; 15 : 237-8.
9. Ezeh UIO, Taub N, Moore HDM, Cooke ID. Establishment of predictive variables associated with testicular sperm retrieval in men with non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 1999; 14 : 1005-12.
10. Tiepolo L, Zuffardi O. Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm. *Hum Genet* 1976;34:119–124
11. Sadeghi-Nejad H, Farrokhi F. Genetics of azoospermia: Current knowledge, clinical implications, and future directions. Part II. *Urol J* 2007; 4 : 192-206.
12. Kleiman SE, Yogev L, Gamzu R, Hauser R, Botchan A, Lessing JB, et al. Genetic evaluation of infertile men. *Hum Reprod.* 1999;4:33–8. doi:10.1093/humrep/14.1.33.
13. Briton-Jones C, Haines CJ. Microdeletions on the long arm of the Y chromosome and their association with male-factor infertility. *Hong Kong Med J.* 2000;6:184–9.
14. Vicdan A, Vicdan K, Günalp S, Kence A, Akarsu C, Işık AZ, et al. Genetic aspects of human male infertility: The frequency of chromosomal abnormalities and Y chromosome microdeletions in severe male factor infertility. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2004;117:49–54. doi:10.1016/j.ejogrb.2003.07.006.
15. Foresta C, Moro E, Garolla A, Onisto M, Ferlin A. Y chromosome microdeletions in cryptorchidism and idiopathic infertility. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:3660–5.
16. Kent-First M, Muallem A, Shultz J, Pryor J, Roberts K, Nolten W, et al. Defining regions of the Y-chromosome responsible for male infertility and identification of a fourth AZF region (AZFd) by Y-chromosome microdeletion detection. *Mol Reprod Dev* 1999; 53 : 27-41.
17. Chandley AC. Chromosome anomalies and Y chromosome microdeletions as causal factors in male infertility. *Hum Reprod* 1998;13:45-50.
18. Foresta C, Moro E, Ferlin A. Y chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis. *Endocr Rev* 2001; 22:226-39.
19. Sadeghi-Nejad H, Farrokhi F. Genetics of azoospermia: current Knowledge . *Urol J* 2007; 4: 192-206.
20. Raicu F, Popa L, Apostol P, Cimponeriu D, Dan L, Ilinca E, et al. Screening for microdeletions in human Y chromosome- AZF candidate genes and male infertility. *J Cell Mol Med* 2003; 7 : 43-8.
21. Nagvenkar P, Desai K, Hinduja I, Zaveri K. Chromosomal studies in infertile men with oligozoospermia and non-obstructive azoospermia. *Indian J Med Res.* 2005;122:34–42.
22. Hellani A, Al-Hassan S, Iqbal M, Coskun S. Y chromosome microdeletions in infertile men with idiopathic oligo- or azoospermia. *J Exp Clin Assist Reprod.* 2006;30,3(1):1–6.
23. Vutyavanich T, Piromlertamorn W, Sirirungsri W, Sirisukkasem S. Frequency of Y chromosome microdeletions and chromosomal abnormalities in infertile Thai men with oligozoospermia and azoospermia. *Asian J Androl.* 2007;9:68–75. doi:10.1111/j.1745- 7262.2007.00239.x.
24. Bor P, Hindkjær J, Kølvrå S, Jakob H, Ingerslev HJ. Y- Chromosome microdeletions and cytogenetic findings in unselected ICSI candidates at a Danish fertility clinic. *J Assist Reprod Genet.* 2002;19(5):224–31. doi:10.1023/A:1015358802577.
25. Vernaeve V, Staessen C, Verheyen G, Van Steirteghem A, Devroey P, Tournaye H. Can biological or clinical parameters predict testicular sperm recovery in 47,XXY Klinefelter's syndrome patients? *Hum Reprod.* 2004;19(5):1135–9. doi:10.1093/humrep/deh253.

26. Kamischke A, Gromoll J, Simoni M, Behre HM, Nieschlag E. Transmission of a Y chromosomal deletion involving the deleted in azoospermia (DAZ) and chromodomain (CDY1) genes from father to son through intracytoplasmic sperm injection: case report. *Hum Reprod* 1999; 14 : 2320-2.
27. Kuhnert B, Gromoll J, Kostova E, Tschanter P, Luetjens CM, Simoni M, *et al.* Case report: natural transmission of an AZFc Y-chromosomal microdeletion from father to his sons. *Hum Reprod* 2004; 19 : 886-8.
28. Page DC, Silber S, Brown LG. Men with infertility caused by AZFc deletion can produce sons by intracytoplasmic sperm injection, but are likely to transmit the deletion and infertility. *Hum Reprod* 1999; 14 : 1722-6.
29. 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 : 240-9.
30. Ferrás C, Fernandes S, Marques CJ, Carvalho F, Alves C, Silva J, Sousa M, Barros A. AZF and DAZ gene copy-specific deletion analysis in maturation arrest and Sertoli cell-only syndrome. *Mol Hum Reprod* 2004;10:755-61.
31. Foresta C, Garolla A, Bartoloni L, Bettella A, Ferlin A. Genetic abnormalities among severely oligospermic men who are candidates for intracytoplasmic sperm injection. *J. Clin Endocrinol Metab* 2005;90:152-6.
32. World Health Organization. *WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction*, 4th ed. Cambridge: Cambridge University Press; 1999.
33. Vogt PH, Edelmann A, Kirsch S, Henegariu O, Hirschmann P, Kiesewetter F, *et al.* Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Hum Mol Genet* 1996; 5 : 933-43.
34. Saxena R, de Vries JW, Repping S, Alagappan RK, Skaletsky H, Brown LG, *et al.* Four DAZ genes in two clusters found in the AZFc region of the human Y chromosome. *Genomics* 2000; 67 : 256-67.
35. Ferlin A, Tessari A, Ganz F, Marchina E, Barlati S, Garolla A, *et al.* Association of partial AZFc region deletions with spermatogenic impairment and male infertility. *J Med Genet* 2005; 42 : 209-13.
36. Noordam MJ, van der Veen F, Repping S. Techniques and reasons to remain interested in the Y chromosome. *Fertil Steril.* 2006;86:1801-2.
37. 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;27:240-9.
38. Krausz C, Forti G, McElreavey K. The Y chromosome and male fertility and infertility. *Int J Androl* 2003; 26 : 70-5.
39. Zamani AG, Kutlu R, Durakbasi-Dursan HG, Gorkemli H, Acar A. Y chromosome microdeletions in Turkish infertile men. *Indian J Hum Genet* 2006; 12 : 66-71.
40. Omrani MD, Samadzade S, Bagheri M, Attar K. Y chromosome microdeletions in idiopathic infertile men from West Azarbaijan. *Urol J* 2006; 3 : 38-43.
41. Foresta C, Moro E, Ferlin A. Y chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis. *Endocr Rev* 2001;22:226-39.
42. Foresta C, Moro E, Ferlin A. Prognostic value of Y deletion analysis. The role of current methods. *Hum Reprod* 2001;16:1543-7.
43. Sun C, Skaletsky H, Birren B, Devon K, Tang Z, Silber S, *et al.* An azoospermic man with a de novo point mutation in the Y-chromosomal gene USP9Y. *Nat Genet* 1999;23:429-32.
44. Stuppia L, Calabrese G, Franchi PG, Mingarelli R, Gatta V, Palka G, *et al.* Widening of a Y-chromosome interval-6 deletion transmitted from a father to his infertile son accounts for an oligozoospermia critical region distal to the RBM1 and DAZ genes. *Am J Hum Genet* 1996;59:1393-5.
45. van Golde RJT, *et al.* Decreased fertilization rate and embryo quality after ICSI in oligozoospermic men with microdeletions in the azoospermia factor c region of the Y chromosome. *Hum Reprod.* 2001;16:289-92.
46. Male Infertility Best Practice Policy Committee of the American Urological Association. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Report on optimal evaluation of the infertile male. *Fertil Steril* 2006;86(5 Suppl):S202-9.
47. Schlegel PN. Testicular sperm extraction: microdissection improves sperm yield with minimal tissue excision. *Hum Reprod* 1999;14:131-5.
48. Cram DS, Osborne E, McLachlan RI. Y chromosome microdeletions: implications for assisted conception. *Med J Aust* 2006; 185:433-4.
49. Kremer, J.A., *et al.*, Microdeletions of the Y chromosome and intracytoplasmic sperm injection: from gene to clinic. *Hum Reprod.* 1997. 12(4): p. 687-91.
50. Foresta, C., *et al.*, High frequency of well-defined Y-chromosome deletions in idiopathic Sertoli cell-only syndrome. *Hum Reprod.* 1998. 13(2): p. 302-7.
51. Rucker, G.B., *et al.*, Preoperative screening for genetic abnormalities in men with nonobstructive azoospermia before testicular sperm extraction. *J Urol.* 1998. 160(6 Pt 1): p. 2068-71.
52. Dohle, G.R., *et al.*, Genetic risk factors in infertile men with severe oligozoospermia and azoospermia. *Hum Reprod.* 2002. 17(1): p. 13-6.

53. Tse, J.Y., et al., A comparative study of Y chromosome microdeletions in infertile males from two Chinese populations. *J Assist Reprod Genet*, 2002. 19(8): p. 376-83.
54. SaoPedro, S.L., et al., Prevalence of Y chromosome deletions in a Brazilian population of nonobstructive azoospermic and severely oligozoospermic men. *Braz J Med Biol Res*, 2003. 36(6): p. 787-93.
55. Rao, L., et al., Chromosomal abnormalities and y chromosome microdeletions in infertile men with varicocele and idiopathic infertility of South Indian origin. *J Androl*, 2004. 25(1): p. 147-53.
56. Zhou-Cun, A., et al., Chromosomal abnormality and Y chromosome microdeletion in Chinese patients with azoospermia or severe oligozoospermia. *Yi Chuan Xue Bao*, 2006. 33(2): p. 111-6.
57. Pina-Neto, J.M., et al., Somatic cytogenetic and azoospermia factor gene microdeletion studies in infertile men. *Braz J Med Biol Res*, 2006. 39(4): p. 555-61.
58. Arruda, J.T., et al., Y chromosome microdeletions in Brazilian fertility clinic patients. *Genet Mol Res*, 2007. 6(2): p. 461-9.
59. Imken, L., et al., AZF microdeletions and partial deletions of AZFc region on the Y chromosome in Moroccan men. *Asian J Androl*, 2007. 9(5): p. 674-8.
60. Malekasgar, A.M. and H. Mombaini, Screening of 'Y' chromosome microdeletions in Iranian infertile males. *J Hum Reprod Sci*, 2008. 1(1): p. 2-9.
61. Martinez-Garza, S.G., et al., Genetic screening in infertile Mexican men: chromosomal abnormalities, Y chromosome deletions, and androgen receptor CAG repeat length. *J Androl*, 2008. 29(6): p. 654-60.
62. Ceylan, G.G., C. Ceylan, and H. Elyas, Genetic anomalies in patients with severe oligozoospermia and azoospermia in eastern Turkey: a prospective study. *Genet Mol Res*, 2009. 8(3): p. 915-22.
63. Ng, P.P., et al., Chromosomal anomalies and Y- microdeletions among Chinese subfertile men in Hong Kong. *Hong Kong Med J*, 2009. 15(1): p. 31-8.
64. Kumtepe, Y., et al., A genetic survey of 1935 Turkish men with severe male factor infertility. *Reprod Biomed Online*, 2009. 18(4): p. 465-74.
65. Stahl, P.J., et al., A decade of experience emphasizes that testing for Y microdeletions is essential in American men with azoospermia and severe oligozoospermia. *Fertil Steril*, 2010. 94(5): p. 1753-6.
66. Wang, R.X., et al., Male infertility in China: laboratory finding for AZF microdeletions and chromosomal abnormalities in infertile men from Northeastern China. *J Assist Reprod Genet*, 2010. 27(7): p. 391-6.
67. Mirfakhraie, R., et al., High prevalence of AZFb microdeletion in Iranian patients with idiopathic non-obstructive azoospermia. *Indian J Med Res*, 2010. 132: p. 265- 70.
68. Behulova, R., et al., Incidence of microdeletions in the AZF region of the Y chromosome in Slovak patients with azoospermia. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 2011. 155(1): p. 33-8.
69. De Palma, A., et al., Patients with abnormal sperm parameters have an increased sex chromosome aneuploidy rate in peripheral leukocytes. *Hum Reprod*, 2005. 20(8): p. 2153-6.

تاريخ ورود البحث إلى مجلة جامعة دمشق 2013/9/2.

تاريخ قبوله للنشر 2013/11/12.