

## Cytogenetic Analysis of 13 Iranian Women with Premature Ovarian Failure

### ARTICLE INFO

#### Article Type

Case Report

#### Authors

Hadipour F.<sup>1</sup> MD,  
Hadipour Z.<sup>1</sup> MD,  
Mousavi F.<sup>2</sup> MSc,  
Bagherizadeh I.<sup>2</sup> MSc,  
Shafaghathi Y.<sup>3</sup> MD,  
Behjati F.\* PhD

#### How to cite this article

Hadipour F, Hadipour Z, Mousavi F, Bagherizadeh I, Shafaghathi Y, Behjati F. Cytogenetic Analysis of 13 Iranian Women with Premature Ovarian Failure. Sarem Journal of Reproductive Medicine. 2017;1(3):133-136.

\*"Sarem Cell Research Center (SCRC), Sarem Cell Research Center (SCRC), Medical Genetics Department, Sarem Women's Hospital" and "Genetic Research Center, University of Welfare & Rehabilitation Sciences", Tehran, Iran

<sup>1</sup>Sarem Fertility & Infertility Research Center (SAFIR) and Sarem Cell Research Center (SCRC) and Medical Genetics Department, Sarem Women's Hospital, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Sarem Cell Research Center (SCRC) and Medical Genetics Department, Sarem Women's Hospital, Tehran, Iran

<sup>3</sup>"Sarem Cell Research Center (SCRC), Sarem Cell Research Center (SCRC), Medical Genetics Department, Sarem Women's Hospital" and "Genetic Research Center, University of Welfare & Rehabilitation Sciences", Tehran, Iran

#### Correspondence

Address: Sarem Women's Hospital, Basij Square, Phase 3, Ekbatan Town, Tehran, Iran. Postal Code: 1396956111

Phone: +98 (21) 44670888

Fax: +98 (21) 44670432

f\_behjati@uswr.ac.ir

#### Article History

Received: March 2, 2016

Accepted: June 21, 2016

ePublished: August 15, 2017

### ABSTRACT

**Patients Information** Considering the clinical importance and the deep impact of Premature Ovarian Failure (POF) on the life of affected people and the important role of genetics in its development, this study was conducted to determine the frequency and type of chromosomal abnormalities in Iranian women referred to Sarem Hospital with premature ovarian failure. Karyotype analysis and its association with phenotype were performed on 13 Iranian women with confirmed premature ovarian failure. The metaphase chromosomes were prepared and analyzed with G-banding technique and mosaicism of 100 cells from lymphocyte cells was studied. Finally, chromosomal abnormalities were diagnosed in 2 of 13 patients (15.38%) with premature ovarian failure. A patient with chromosomal mosaicism was [42] XX, 46 / [8] X, 45. The second patient had a translocation between chromosome X and chromosome 9, that was 46, XX, t(X,9)(q22.1;q22.1).

**Conclusion** The overall prevalence of chromosomal abnormalities is 15.38% among patients with premature ovarian failure, which is confirmed by our findings in the chromosomal examination of these women.

**Keywords** Cytogenetics; Diffusion; Premature Ovarian Failure; Prevalence; Chromosomal Abnormality

### CITATION LINKS

[1] Premature gonadal failure [2] Premature ovarian failure [3] Familial premature ovarian failure [4] Evidence for a genetic factor in the etiology of premature ovarian failure [5] Molecular cytogenetic studies of Xq critical regions in premature ovarian failure patients [6] Premature ovarian failure (POF) syndrome: Towards the molecular clinical analysis of its genetic complexity [7] An X;9 translocation, primary amenorrhea, and hypothalamic dysfunction [8] Balanced reciprocal (X;9) translocation in a girl with primary amenorrhea [9] New syndrome of amenorrhea in association with hypergonadotropism and apparently normal ovarian follicular apparatus [10] The gonadotropin resistant ovary syndrome [11] Premature menopause due to a small deletion in the long arm of the X chromosome: A report of three cases and a review [12] Hypergonadotrophic hypogonadism in female patients with galactosemia [13] Three siblings with premature gonadal failure [14] Investigating the role of X chromosome breakpoints in premature ovarian failure [15] Cytogenetic analysis of 531 Chinese women with premature ovarian failure [16] Genetic abnormalities in Turkish women with premature ovarian failure [17] A study of hypergonadotropic secondary amenorrhea with cytogenetics [18] The cytogenetics of premature ovarian failure [19] Chromosome mosaicism in patients with recurrent abortion or premature ovarian failure

## آنالیز سیتوژنتیک در ۱۳ زن بیمار ایرانی با نارسایی زودرس تخمدان

فاطمه هادی پور MD

مرکز تحقیقات باروری و ناباروری صرم و پژوهشکده سلولی-مولکولی و سلول‌های بنیادی صرم و دپارتمان ژنتیک پزشکی صرم، بیمارستان فوق تخصصی صرم، تهران، ایران

زهرا هادی پور MD

مرکز تحقیقات باروری و ناباروری صرم و پژوهشکده سلولی-مولکولی و سلول‌های بنیادی صرم و دپارتمان ژنتیک پزشکی صرم، بیمارستان فوق تخصصی صرم، تهران، ایران

فهیمه موسوی MSc

پژوهشکده سلولی مولکولی و سلول‌های بنیادی صرم و دپارتمان ژنتیک پزشکی صرم، بیمارستان فوق تخصصی صرم، تهران، ایران

ایمان باقری زاده MSc

پژوهشکده سلولی مولکولی و سلول‌های بنیادی صرم و دپارتمان ژنتیک پزشکی صرم، بیمارستان فوق تخصصی صرم، تهران، ایران

یوسف شفتی MD

"پژوهشکده سلولی مولکولی و سلول‌های بنیادی صرم، مرکز تحقیقات باروری و ناباروری صرم، دپارتمان ژنتیک پزشکی صرم، بیمارستان فوق تخصصی صرم" و "مرکز تحقیقات ژنتیک، دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی"، تهران، ایران

فرخنده بهجتی MD

"پژوهشکده سلولی مولکولی و سلول‌های بنیادی صرم، مرکز تحقیقات باروری و ناباروری صرم، دپارتمان ژنتیک پزشکی صرم، بیمارستان فوق تخصصی صرم" و "مرکز تحقیقات ژنتیک، دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی"، تهران، ایران

### چکیده

**مشخصات بیماران:** با توجه به اهمیت بالینی و تاثیر عمیق نارسایی زودرس تخمدان بر زندگی افراد مبتلا و نقش مهم ژنتیک در ایجاد آن، این مطالعه با هدف تعیین فراوانی و نوع ناهنجاری‌های کروموزومی در زنان ایرانی مراجعه‌کننده به بیمارستان صرم با نارسایی زودرس تخمدان انجام شد. آنالیز کاریوتایپ و ارتباط آن با فنوتیپ روی ۱۳ زن بیمار ایرانی با نارسایی زودرس تخمدان تایید شده انجام شد. کروموزوم‌های متافازی با تکنیک G-باندینگ آماده و آنالیز شده و موزائیسیم 100 سلول از سلول‌های لنفوسیت مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت ناهنجاری‌های کروموزومی در ۲ بیمار از ۱۳ بیمار (۱۵/۳۸٪) با نارسایی زودرس تخمدان تشخیص داده شد. یک بیمار دارای موزائیسیم کروموزومی 45,X[8]/46,XX[42] بود. بیمار دوم جابه‌جایی بین کروموزوم X و کروموزوم اتوزوم ۹ به صورت 46,XX,t(X,9)(q22.1;q22,1) داشت.

**نتیجه‌گیری:** شیوع کلی ناهنجاری‌های کروموزومی ۱۵/۳۸٪ در بین مبتلایان با نارسایی زودرس تخمدان است که یافته‌های ما هم در بررسی کروموزومی این زنان موید آن است.

**کلیدواژه‌ها:** سیتوژنتیک، نارسایی زودرس تخمدان، شیوع، ناهنجاری کروموزومی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۴/۰۱

\*نویسنده مسئول: f\_behjati@uswr.ac.ir

### مقدمه

اگر تخمدان‌های یک زن قبل از ۴۰ سالگی از کار بیفتد، فرد به نارسایی زودرس تخمدان (POF) مبتلا است. نارسایی زودرس تخمدان تقریباً بر ۱٪ زنان تاثیر می‌گذارد. برخی از زنان در نوجوانی دچار نارسایی زودرس تخمدان می‌شوند. در صورت وقوع چنین اتفاقی، این زنان هرگز عملکرد طبیعی تخمدان نخواهند داشت. عملکرد تخمدان شامل تولید تخمک و هورمون‌های استروژن و پروژسترون است. برخلاف یائسگی، نارسایی زودرس تخمدان احتمالاً در خیلی از زنان به صورت متناوب رخ می‌دهد<sup>[1, 2]</sup>. شاید بهتر است اصطلاح ناکارایی زودرس تخمدان برای این اختلال به کار رود. بسیاری از زنان علایمی دارند که به صورت طبیعی با

دانشنامه صرم در طب باروری

یائسگی مرتبط است. این علایم شامل گرگرفتگی، خشکی واژینال، خارش، عرق شبانه و خواب‌های سخت است. ممکن است دوره قاعدگی به صورت پراکنده یا به طور کامل متوقف شود. همچنین برخی زنان ممکن است هرگز شروع دوره قاعدگی را تجربه نکنند یا وارد دوره طبیعی بلوغ نشوند یا هیچ علایمی نداشته باشند و در زمان آزمون‌های ناباروری متوجه ناکارایی تخمدان شوند. بروز این علایم ناشی از سطح پایین استروژن در نتیجه عدم عملکرد یا عملکرد ضعیف تخمدان‌ها است و در بسیاری از افراد علت مشخصی ندارد.

نارسایی زودرس تخمدان در برخی از خانواده‌ها بسیار شایع است. شاید این بیماری با بیماری‌های خودایمن که بر غده‌های آدرنال و تیروئید اثر می‌گذارند در ارتباط باشد. علل دیگر نارسایی زودرس تخمدان می‌تواند ژنتیک باشد (سندروم ترنر و سندروم شکنندگی کروموزوم X)<sup>[1, 2]</sup>. همچنین ممکن است این اختلال بر اثر اشعه‌درمانی یا شیمی‌درمانی ایجاد شود. علاوه بر علایمی که در بالا ذکر شد، سطح استروژن پایین می‌تواند موجب بروز پوکی استخوان یا بیماری‌های زودرس قلبی شود. زنان با نارسایی زودرس تخمدان مستعد ابتلا به افسردگی هستند. اگر نارسایی زودرس تخمدان بر اثر عوامل ژنتیک ایجاد شود، احتمال ریسک طولانی‌مدت برای بیمار و فرزندان آنها وجود دارد. بنابراین مشاوره ژنتیک توصیه می‌شود<sup>[3, 4]</sup>. تقریباً ۱۰٪ زنان با نارسایی زودرس تخمدان، با استفاده از تخمک‌های خود یا بدون استفاده از روش‌های کمک‌باروری باردار می‌شوند، با این وجود نرخ باروری کلی به‌سختی قابل پیش‌بینی است. آزمون‌های خونی شامل آزمون‌های هورمونی (سطوح استروژن و هورمون‌های تحریک‌کننده فولیکول) و آنالیزهای کروموزومی و جهش سندروم شکنندگی کروموزوم X (*FMR1*) برای بررسی عوامل ژنتیک لازم است<sup>[1, 5]</sup>. آزمون سنجش تراکم استخوان هم می‌تواند مناسب باشد.

### بیماران و روش‌ها

بین می ۲۰۰۷ تا جولای ۲۰۱۲، از میان زنان مبتلا به نارسایی زودرس تخمدان که به بیمارستان فوق تخصصی صرم مراجعه داشتند، پژوهش روی ۱۳ نفر سیتوژنتیک انجام شد. معیارهای ورود شامل آمنوره زودرس یا آمنوره ثانویه به مدت حداقل ۴ ماه، سن زیر ۴۰ سال و میزان FSH سرم کمتر از ۴۰ واحد بین‌المللی بر میلی‌لیتر در دوبار اندازه‌گیری به صورت جداگانه حداقل به فاصله یک ماه بود، همچنین بیماران *stigmata Turner* حذف شدند<sup>[3, 6]</sup>. با استفاده از شجره خانوادگی بیماران، اگر یک نفر از خویشاوندان درجه یک یا دو نارسایی زودرس تخمدان یا یائسگی زودرس (یائسگی قبل از ۵۴ سالگی) داشتند، مثبت در نظر گرفته می‌شدند.

**آنالیز سیتوژنتیک:** آنالیزهای کاریوتایپ روی کروموزوم‌های متافازی آماده‌شده با تکنیک رنگ‌آمیزی G-باندینگ انجام شد که از کشت‌های سلول‌های لنفوسیت خونی به دست آمده بودند و براساس روش‌های استاندارد وضوح باندی در محدوده ۴۰۰ تا ۴۵۰ داشتند. برای هر بیمار حداقل ۵۰ متافاز بررسی شد. تنها بافت مورد پژوهش به صورت روتین خون بوده، به همین دلیل این پژوهش به آنالیز خون محدود بوده است.

این ۱۳ نفر دارای میانگین سنی تشخیص ۲۹/۱±۱/۰ سال بودند. از بین افراد مورد بررسی، در یک نفر، خویشاوندان درجه یک یا دو دارای نارسایی زودرس تخمدان یا یائسگی زودرس گزارش شد. ناهنجاری‌های کروموزومی در ۲ بیمار از ۱۳ بیمار (۱۵/۳۸٪) با نارسایی زودرس تخمدان، تشخیص داده شد. یک بیمار دارای

## نتیجه گیری

این پژوهش اهمیت پژوهش‌های سیتوژنتیک را در بیماری نارسایی زودرس تخمدان تأیید می‌کند. ژن‌های زیادی برای تکامل یا عملکرد تخمدان ضروری هستند، این ژن‌ها روی بازوی بلند کروموزوم X قرار دارند. مرکز غیرفعال‌سازی کروموزوم X در ناحیه Xq13 در بازآرایی‌های کروموزومی خاموش می‌شود. ممکن است بازآرایی‌های X و اتوزوم در ژن‌هایی که در عملکرد تخمدان نقش دارند، اختلال ایجاد نکنند، ولی ممکن است بازآرایی‌ها به دلیل پدیده اثر مکانی، موجب تغییر بیان ژن‌ها شوند. با تعیین ژن‌هایی درگیر در تکامل تخمدان در ناحیه اطراف شکست، فرضیه اثر مکانی به عنوان یکی از مکانیزم‌های مهم سهم در فنوتیپ نارسایی زودرس تخمدان معرفی می‌شود.

**تشکر و قدردانی:** موردی از سوی نویسندگان ذکر نشده است.

**تأییدیه اخلاقی:** موردی از سوی نویسندگان ذکر نشده است.

**تعارض منافع:** موردی وجود نداشته است.

**منابع مالی:** توسط پژوهشگرده سلولی- مولکولی و سلول‌های بنیادی صرم و مرکز تحقیقات باروری و ناباروری صرم تأمین شده است.

**سهم نویسندگان:** فاطمه هادی‌پور (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/روشن‌شناس/پژوهشگر اصلی/نگارنده بحث (۲۰٪)؛ زهرا هادی‌پور (نویسنده دوم)، نگارنده مقدمه/روشن‌شناس/پژوهشگر اصلی/نگارنده بحث (۲۰٪)؛ فیهیمه موسوی (نویسنده سوم)، نگارنده مقدمه/روشن‌شناس/پژوهشگر اصلی/نگارنده بحث (۱۰٪)؛ ایمان باقری‌زاده (نویسنده چهارم)، نگارنده مقدمه/روشن‌شناس/پژوهشگر اصلی/تحلیل‌گر آماری (۱۰٪)؛ یوسف شفقتی (نویسنده پنجم)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی/تحلیل‌گر آماری (۲۰٪)؛ فرخنده بهجتی (نویسنده ششم)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی/تحلیل‌گر آماری (۲۰٪)

## منابع

- 1- Coulam, CB. Premature gonadal failure. Fertil Steril. 1982;38(6):645-55.
- 2- de Moraes-Ruehsen M, Jones GS. Premature ovarian failure. Fertil Steril. 1967;18(4):440-61.
- 3- Mattison DR, Evans MI, Schwimmer WB, White BJ, Jensen B, Schulman JD. Familial premature ovarian failure. Am J Hum Genet. 1984;36(6):1341-8.
- 4- Coulam CB, Stringfellow S, Hoefnagel D. Evidence for a genetic factor in the etiology of premature ovarian failure. Fertil Steril. 1983;40(5):693-5.
- 5- Portnoi MF, Aboura A, Tachdjian G, Bouchard P, Dewailly D, Bourcigaux N, et al. Molecular cytogenetic studies of Xq critical regions in premature ovarian failure patients. Hum Reprod. 2006;21:2329-34.
- 6- Fassnacht W, Mempel A, Strowitzki T, Vogt PH. Premature ovarian failure (POF) syndrome: Towards the molecular clinical analysis of its genetic complexity. Curr Med Chem. 2006;13(12):1397-410.
- 7- Gardner HA, McConnon JK, MacKenzie MA. An X;9 translocation, primary amenorrhea, and hypothalamic dysfunction. Am J Med Genet. 1983;14(4):647-56.
- 8- Leddet-Chevallier I, Reid RA, Carrel RE, Sparkes RS. Balanced reciprocal (X;9) translocation in a girl with primary amenorrhea. Ann genet. 1981;24(3):162-4.
- 9- Jones GS, DeMoraes-Ruehsen MA. New syndrome of amenorrhea in association with hypergonadotropism

موزائیسیم کروموزومی [42]XX/46,X[8] بود. بیمار دوم جابه‌جایی بین کروموزوم X و کروموزوم اتوزوم ۹ به صورت (q22.1;q22.1)(X,9)t(46,XX) داشت (جدول ۱).

**جدول ۱** بروز جابجایی (X;9) با نارسایی زودرس تخمدان در جمعیت‌های مختلف

| فنوتیپ   | نواحی شکست          |
|--|---------------------|
| تاخیر در بلوغ و آمنوره اولیه                         | t(x;9)(q22;q12)     |
| آمنوره اولیه بدون وجود دیگر علائم بالینی سندروم ترنر | t(x;9)(q22;q12)     |
| آمنوره اولیه بدون سایر علائم بالینی                  | t(x;9)(q22.1;q22.1) |

## بحث

در ارتباط با جابه‌جایی کروموزومی X و کروموزوم ۹، پژوهش‌های مختلفی روی بیماران با نارسایی زودرس تخمدان دقیقاً با همین نقطه شکست، در جمعیت‌های مختلف انجام شده است [7,8]. با وجود کاهش میانگین سن منارک در طول قرن بیستم، به نظر می‌رسد میانگین سن یائسگی با توجه به زمان و نژاد متغیر است و تقریباً در ۵۰ سالگی رخ می‌دهد. نارسایی زودرس تخمدان به عنوان آمنوره ثانویه با گنادوتروپین افزایش‌یافته در حال وقوع، قبل از ۴۰ سالگی تعریف می‌شود و تخلیه ذخیره تخمدانی و عدم آزاد شدن تخمک معمولاً دیده می‌شود، با این وجود یک تخمدان که دیگر به گنادوتروپین حساس نیست، می‌تواند به عنوان نارسایی تخمدان واقعی تلقی شود [9, 10]. نارسایی زودرس تخمدان به طور معمول ایدیوپاتیک (با علت ناشناخته) است، ولی گاهی ممکن است در نتیجه یک بیماری ژنتیک بوده که با آترزی سریع فولیکول‌ها مانند سندروم ترنر [11] یا با تشکیل تعداد کمی از فولیکول‌های کوچک همانند گالاکتوزیا مرتبط باشد [12]. نابودی سلول‌های جنسی در مراحل قبل و بعد از بلوغ با عفونت‌های ویروسی، داروها، مصرف سیگار، داروهای ضدتومور یا پرتودرمانی می‌تواند مرتبط باشد. خودایمنی نیز پایه نارسایی زودرس تخمدان در بیماران با آنتی‌بادی‌های ضدتخمدان، بیماری آدیسون و میاستنی گراویس است. نقش فاکتورهای خانوادگی توسط د- موآرس رووشن [2] و اسمیت [13] مطرح شد. ماتیسون و همکاران [5] پیشنهاد کردند، نارسایی زودرس تخمدان می‌تواند یک بیماری مندلی به ارث رسیده از پدر یا مادر، به عنوان یک صفت اتوزومی یا وابسته به X غالب مشاهده شود. در این پژوهش فراوانی ناهنجاری کروموزومی در بیماران حدود ۱۵/۳۸٪ بود که تقریباً مشابه با پژوهش‌های پیشین در جمعیت‌های مختلف است [14-19] (جدول ۲).

**جدول ۲** خلاصه‌ای از فراوانی ناهنجاری‌های کروموزومی گزارش شده در بیماران با نارسایی زودرس تخمدان در جمعیت‌های مختلف

| جمعیت         | مشخصه بالینی | حجم نمونه | تعداد CA* | فراوانی CA% |
|---------------|--------------|-----------|-----------|-------------|
| ایتالیایی     | POF          | ۲۶۹       | ۴         | ۱/۴۸        |
| چینی          | POF          | ۵۳۱       | ۶۱        | ۱۲/۱        |
| ترک (آناتولی) | POF          | ۷۵        | ۱۸        | ۲۴          |
| چینی          | POF          | ۱۰۴       | ۱۳        | ۱۲/۵        |
| شیلیایی       | POF          | ۴۷        | ۱۲        | ۲۲          |
| ایرانی        | POF          | ۱۳        | ۲         | ۱۵/۳۸       |

\*CA: chromosomal abnormalities

تعیین جزییات سیتوژنتیک بیماران جدید با فنوتیپ نارسایی زودرس تخمدان در به دست آوردن اطلاعات بیشتر و مشخص کردن همه عوامل ژنتیک دخیل در این بیماری نقش مهمی خواهد داشت.

- 2012;5:32.
- 15- Jiao X, Qin C, Li J, Qin Y, Gao X, Zhang B, et al. Cytogenetic analysis of 531 Chinese women with premature ovarian failure. *Hum Reprod*. 2012;27(7):2201-7.
- 16- Ceylaner G, Altinkaya SO, Mollamahmutoglu L, Ceylaner S. Genetic abnormalities in Turkish women with premature ovarian failure. *Int J gynaecol Obstet*. 2010;110(2):122-4.
- 17- Zhang J, Tang YY, Guo YP. A study of hypergonadotropic secondary amenorrhea with cytogenetics. *J Chongqing Med Univ*. 2003;2:151-152.
- 18- Castillo S, Lopez F, Tobella L, Salazar S, Daher V. The cytogenetics of premature ovarian failure. *Rev Chil Obstet Ginecol*. 1992;57(5):341-5. [Spanish]
- 19- Wu RC, Kuo PL, Lin SJ, Liu CH, Tzeng CC. chromosome mosaicism in patients with recurrent abortion or premature ovarian failure. *J Formos Med Assoc*. 1993;92(11):953-6.
- and apparently normal ovarian follicular apparatus. *Am J Obstet Gynecol*. 1969;104(4):597-600.
- 10- Maxson WS, Wentz AC. The gonadotropin resistant ovary syndrome. *Semin Reprod Endocr*. 1983;1(2):147-60.
- 11- Fitch N, De Saint Victor J, Richer CL, Pinsky L, Sitahal S. Premature menopause due to a small deletion in the long arm of the X chromosome: A report of three cases and a review. *Am J Obstet Gynecol*. 1982;142(8):968-72.
- 12- Kaufman FR, Kogut MD, Donnell GN, Goebelsmann U, March C, Koch R. Hypergonadotrophicypogonadism in female patients with galactosemia. *N Engl J Med*. 1981;304(17):994-8.
- 13- Smith A, Fraser IS, Noel M. Three siblings with premature gonadal failure. *Fertil Steril*. 1979;32(5):528-30.
- 14- Baronchelli S, Villa N, Redaelli S, Lissoni S, Saccheri F, Panzeri E, et al. Investigating the role of X chromosome breakpoints in premature ovarian failure. *Mol Cytogenet*.