

## Study of Chromosomal Abnormalities in Couples with Recurrent Spontaneous Abortions (RSA) in Ardabil Province

Jahani Z<sup>1</sup>, Hosseini Asl S<sup>2,3</sup>, Akhavan H\*<sup>2,3</sup>

1. Department of Genetics, School of Sciences, Rey Branch, Payame Noor University, Tehran, Iran.

2. Laboratory of Medical Genetics, Imam Khomeini Hospital, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran.

3. Homa Laboratory of Medical Genetics, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran.

\*Corresponding author. Tel: +984533256633, Fax: +984533256644, E-mail: homa.akhavan.agh@gmail.com

Received: Aug 23, 2017 Accepted: Jan 20, 2018

### ABSTRACT

**Background & objectives:** The spontaneous abortion, loss of the fetus until the twentieth week of pregnancy, is one of the most common medical problems in reproductive age. Approximately 15 to 20 percent of all clinically recognized pregnancies lead to abortion. Failure in pregnancy involves economic costs, physical and mental problems for the family and the society. Recurrent spontaneous abortion is a multifactorial phenomenon and this study analyzed chromosomal abnormalities and the prevalence of consanguineous marriages in parents with recurrent spontaneous abortions in Ardabil province.

**Methods:** A total of 350 patients with at least two spontaneous abortions were analyzed using GTG-banding cytogenetic technique.

**Results:** Parental chromosomal abnormalities were found in 18 cases (10.28% of couples). Most of abnormalities were structural (72.2%). chromosomal aberrations were found in 10 (55.6%) females and 8 (44.4%) males. Translocations were the most common chromosomal abnormalities (55.6 %) diagnosed in this study. Also, there was a significant correlation between recurrent spontaneous abortion due to consanguineous marriage and chromosomal abnormalities ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** According to the significant correlation between recurrent spontaneous abortion and chromosomal abnormalities in this study and previous studies, and also the high rate of consanguineous marriages in Ardabil province population, analysis of chromosomal abnormalities is necessary after genetic counseling for both parents with recurrent spontaneous abortions.

**Keywords:** Recurrent Spontaneous Abortion; Chromosomal Abnormalities; Consanguineous Marriage; Ardabil, GTG- Banding Method

## بررسی ناهنجاری‌های کروموزومی در زوج‌های واجد سقط‌های مکرر خودبخودی در استان اردبیل

زیبا جهانی<sup>۱</sup>، سید سعید حسینی اصل<sup>۲</sup>، هما اخوان<sup>۳\*</sup>

۱. گروه ژنتیک، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور واحد ری، تهران، ایران

۲. آزمایشگاه ژنتیک پزشکی، بیمارستان امام خمینی (ره)، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

۳. آزمایشگاه ژنتیک پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران.

\* نویسنده مسئول: تلفن: ۰۴۵۳۳۲۵۶۶۳۳، فاکس: ۰۴۵۳۳۲۵۶۶۴۴، ایمیل: homa.akhavan.agh@gmail.com

### چکیده

**زمینه و هدف:** سقط خودبخودی جنین، به از دست دادن آن تا هفته بیستم بارداری اطلاق می‌شود که یکی از شایع‌ترین مشکلات پزشکی در دوران باروری است. حدود ۱۵ تا ۲۰ درصد تمام بارداری‌های قابل تشخیص بالینی منجر به سقط می‌شوند. عدم موفقیت در بارداری، هزینه‌های اقتصادی و مشکلات روحی و جسمی برای خانواده و جامعه به همراه دارد. سقط مکرر خودبخودی یک عارضه چندعاملی است و مطالعه حاضر به بررسی ناهنجاری‌های کروموزومی در ازدواج‌های خویشاوندی در زوج‌های واجد سقط‌های مکرر خودبخودی در استان اردبیل پرداخته است.

**روش کار:** ۳۵۰ بیمار واجد حداقل دو سقط خودبخودی جنین، با استفاده از تکنیک سیتوژنتیکی GTG-banding مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** ناهنجاری‌های کروموزومی والدین در ۱۸ مورد یافت شد (۱۰/۲۸٪ زوج‌ها). بیشتر ناهنجاری‌ها از نوع ساختاری بودند (۷۲/۲٪). ناهنجاری‌های کروموزومی در ۱۰ مورد از زنان (۵۵/۶٪) و ۸ مورد (۴۴/۴٪) از مردان مشاهده شد. جابجایی‌ها فراوان‌ترین ناهنجاری‌های کروموزومی (۵۵/۶٪) تشخیص داده شده در این مطالعه بودند. همچنین بین سقط مکرر خودبخودی ناشی از ازدواج خویشاوندی و ناهنجاری‌های کروموزومی ارتباط معناداری یافت شد ( $p < 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** با توجه به وجود ارتباط معنی‌دار بین سقط مکرر خودبخودی و ناهنجاری‌های کروموزومی در این مطالعه و مطالعه‌های قبلی، همچنین میزان بالای ازدواج‌های خویشاوندی در جمعیت استان اردبیل، بررسی ناهنجاری‌های کروموزومی والدین واجد سقط مکرر، به دنبال مشاوره ژنتیک، امری ضروری است.

**واژه‌های کلیدی:** سقط مکرر خودبخودی، ناهنجاری‌های کروموزومی، ازدواج خویشاوندی، اردبیل، GTG-banding

پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۳۰

دریافت: ۱۳۹۶/۰۶/۰۱

### مقدمه

حاملگی به صورت پیوسته، قبل از هفته بیستم بارداری را سقط مکرر خودبخودی می‌گویند [۲]. اگرچه هنوز این اختلاف نظر وجود دارد که افراد دارای دو سقط، یا سه سقط و بیشتر به عنوان مبتلایان به سقط مکرر (RM)<sup>۲</sup> در نظر گرفته شوند، اکثر پزشکان بر ارزیابی

سقط مکرر خودبخودی (RSA)<sup>۱</sup> تقریباً در ۱۵ تا ۲۰ درصد بارداری‌های قابل تشخیص بالینی رخ می‌دهد [۱]. به طور کلی از دست رفتن دو یا تعداد بیشتری

<sup>۱</sup> Recurrent Spontaneous Abortions

<sup>۲</sup> Recurrent Miscarriage

اولیه بعد از دومین سقط تاکید دارند، چرا که تفاوت قابل توجهی در استعداد ابتلا به RM، بین بیمارانی با دو سقط و دفعات سه سقط یا بیشتر وجود ندارد [۳]. علی‌رغم مطالعات قابل توجه انجام‌شده در کلینیک‌های زنان و زایمان و مراکز لقاح مصنوعی (IVF)<sup>۱</sup> در سرتاسر جهان درباره عوارض زایمان زودرس، درک ضعیفی از اتیولوژی سقط مکرر وجود دارد [۴]؛ به طوری که تقریباً در ۵۰ درصد زوج‌های دارای سقط با وجود ارزیابی کامل، اتیولوژی آن ناشناخته می‌ماند. به همین علت آن‌ها جزء موارد با دلیل ناشناخته طبقه‌بندی می‌شوند؛ بنابراین هنوز رویکردهای پیشگیری، تشخیص و درمان موثری یافت نشده‌اند [۵]. آنچه که مسلم است مشاوره ژنتیکی قبل از بارداری و قبل از تولد، موثرترین راه برای بیماران دارای سقط مکرر است. عوامل ژنتیکی، ناهنجاری‌های مادرزادی رحمی و یا ساختاری، اختلال عملکرد غدد درون‌ریز، اختلالات خود ایمنی، انواع عفونت‌ها و عوامل انعقاد خون در بروز این عارضه موثر هستند. ناهنجاری‌های کروموزومی والدین از دلایل ژنتیکی مهم RSA به شمار می‌روند.

سقط خود به خودی ناشی از ناهنجاری‌های کروموزومی ممکن است توسط یکی از والدین تولیدکننده گامت معیوب اتفاق بیفتد که به ناهنجاری‌های جنینی منجر می‌شود [۶].

هر دوی ناهنجاری‌های تعدادی و ساختاری در زوج‌های واجد سقط مشاهده می‌شوند اگرچه ناهنجاری‌های تعدادی شیوع کمتری دارند [۱، ۵]. تریزومی کروموزوم‌های ۱۳ تا ۱۶، ۲۱ و ۲۲ و سپس مونوسومی X شایع‌ترین آنیوپلوئیدی‌های کروموزومی در جنین‌های سقط شده هستند [۷-۱۰]. ناهنجاری‌های ساختاری ناشی از شکست کروموزوم و به دنبال آن بازسازی با ترکیبی غیرطبیعی می‌باشند که ممکن است متعادل یا نامتعادل باشند. اگر مجموعه کروموزومی دارای میزان طبیعی از مواد کروموزومی

باشد آن را متعادل و اگر مواد کروموزومی اضافه شده یا کم باشد آن را نامتعادل گویند. از ناهنجاری‌های ساختاری نامتعادل می‌توان به حذف<sup>۲</sup>، مضاعف شدن<sup>۳</sup>، کروموزوم‌های نشانگر<sup>۴</sup> و حلقوی<sup>۵</sup> و ایزوکروموزوم‌ها<sup>۶</sup> اشاره کرد. از ناهنجاری‌های ساختاری متعادل می‌توان به جابجایی‌ها<sup>۷</sup> و وارونگی<sup>۸</sup> اشاره کرد [۱۱].

ناهنجاری‌های کروموزومی عمدتاً بازآرایی‌های متعادلی هستند که در زوج‌های دارای اختلالات باروری از جمله سقط مکرر شایع هستند [۲]. ناهنجاری‌های متعادل کروموزومی قابل توارث، علی‌رغم این که منجر به ظهور هیچ علائمی در ظاهر افراد نمی‌شوند باعث سقط و مرگ پیش از تولد می‌شوند. اغلب این ناهنجاری‌ها در نتیجه عدم جدا شدن کروموزوم‌ها رخ می‌دهند [۱۲].

جابجایی‌های دوطرفه یکی از فراوان‌ترین ناهنجاری‌ها هستند که در جمعیت عادی ۱ در هر ۶۰۰ نفر رخ می‌دهند درحالی‌که در زوج‌های با سقط مکرر با فراوانی حدود ۷ درصد رخ می‌دهند [۱۳]. اولین مشخصه جابجایی‌های دوطرفه متعادل، غیاب تظاهرات فنوتیپی است و مشخصه دوم و بسیار مهم افزایش خطر تولد کودکانی با بازآرایی‌های کروموزومی نامتعادل است [۱۴].

جابجایی یک‌طرفه (درج‌شدگی‌ها<sup>۹</sup>)، نوع غیر متقابل جابجایی است و زمانی که قطعه‌ای از یک کروموزوم جدا می‌شود و به داخل کروموزوم دیگری چه در جهت طبیعی خود یا به صورت معکوس وارد می‌شود، اتفاق می‌افتد. این ناهنجاری به دلیل اینکه نیاز به سه شکست کروموزومی دارد، نسبتاً نادر است. جدایی

<sup>2</sup> Deletion

<sup>3</sup> Duplication

<sup>4</sup> Marker

<sup>5</sup> Ring

<sup>6</sup> Isochromosomes

<sup>7</sup> Translocation

<sup>8</sup> Inversion

<sup>9</sup> Insertions

<sup>1</sup> In vitro Fertilization

غیرطبیعی در فرد حامل جابجایی یک طرفه، می‌تواند فرزندان با مضاعف شدگی یا حذف بخش الحاقی و نیز فرزندان طبیعی و حاملان متعادل ایجاد کند. احتمال متوسط ایجاد فرزند غیرطبیعی بالا است و تا ۵۰ درصد می‌رسد، بنابراین تشخیص قبل از زایمان توصیه می‌شود [۱۵].

وارونگی پری‌سنتریک با سقط مکرر خودبخودی در ارتباط است. در وارونگی پری‌سنتریک، نوترکیبی در طول تقسیم میوز، ممکن است منجر به حذف یا مضاعف سازی قطعه‌ای از کروموزوم شود [۱]. شایع ترین وارونگی که در کروموزوم‌های انسانی دیده شده، وارونگی پری‌سنتریک کوچک در کروموزوم ۹ است که از نظر ژنتیکی نوعی واریانت طبیعی محسوب می‌شود [۱۵]. هرچند مطالعاتی درباره رابطه وارونگی کروموزوم ۹ با باروری، سقط مکرر و فنوتیپ‌های غیرطبیعی انجام شده اما ارتباط مشخصی بین این وارونگی و سقط جنین به دست نیامده است [۱۶]. برخی از ناهنجاری‌های تک ژنی به صورت تیبیک موجب اتلاف حاملگی در دومین و سومین سه ماه حاملگی می‌شوند. ازدواج‌های خویشاوندی خطر ابتلا به بیماری‌های تک ژنی را افزایش می‌دهد؛ زیرا شانسی اینکه هر دو والد حامل ژن مغلوب بیماری مشابهی باشند که از جد مشترک به ارث برده‌اند افزایش می‌یابد. آلفا تالاسمی مثالی از بیماری تک ژنی است که ممکن است موجب اتلاف حاملگی شود. جنین‌هایی با چهار ژن آلفاگلوبین حذف‌شده، هموگلوبین بارتز را گسترش می‌دهند که موجب مرگ در دومین و سومین سه ماه حاملگی می‌شود [۱۷].

تأثیر تعیین کننده باورهای دینی بر رفتارهای اجتماعی و پیش‌زمینه‌های فکری حاکم بر یک جامعه سنتی مثل استان اردبیل، منجر به نرخ بالایی از ازدواج خویشاوندی در این استان شده است [۱۸]. ازدواج‌های خویشاوندی به طور قابل توجهی بروز اختلالات نهفته ژنتیکی را افزایش داده و روی برخی از فاکتورهای

باروری و رشد و نمو مانند میزان ناباروری، سقط مکرر و اختلالات مادرزادی تأثیر می‌گذارند [۱۹]. مطالعات سیتوژنتیکی بسیاری درباره اختلالات باروری در نقاط مختلف جهان از جمله شهرهای مختلف ایران گزارش شده است. این مطالعه برای اولین بار، بررسی سیتوژنتیکی در زوج‌های دارای سقط در استان اردبیل را انجام داده است. هدف از این مطالعه، بررسی و شناسایی انواع ناهنجاری‌های کروموزومی و شیوع ازدواج‌های خویشاوندی در افراد دارای RSA در استان اردبیل است.

مقاله حاضر نتیجه مطالعه پایان‌نامه تحقیقاتی خانم زیبا جهانی، مقطع کارشناسی ارشد رشته ژنتیک از دانشگاه پیام نور تهران مرکز ری و مورد تأیید دانشگاه علوم پزشکی اردبیل است.

## روش کار

### بیماران

در این مطالعه مشاهده‌ای-تحلیلی در مجموع تعداد ۳۵۰ نفر (۱۷۵ زوج)، واجد حداقل دو مورد سقط خودبخودی، مراجعه‌کننده به آزمایشگاه ژنتیک بیمارستان امام خمینی (ره) اردبیل و آزمایشگاه ژنتیک پزشکی هما (کلینیک تخصصی دانشگاهی فردوس) طی سال‌های ۱۳۹۳ الی ۱۳۹۵ مورد بررسی قرار گرفتند. سابقه خانوادگی و هر گونه نتایج آزمایشگاهی یا تحقیقاتی که در گذشته انجام شده بود ثبت شد. اطلاعات بیماران به صورت محرمانه حفظ گردید. بعد از دریافت اطلاعات و سوابق پزشکی، نمونه خونی هپارینه تهیه شد و کشت کروموزومی و کاریوتایپ به عمل آمد. به منظور رعایت اخلاق پزشکی، رضایت‌نامه‌ای مبنی بر استفاده علمی از نتایج آزمایش‌های انجام گرفته از مراجعه‌کنندگان دریافت گردید.

### آنالیز سیتوژنتیکی

ابتدا خون محیطی از بیماران با استفاده از سرنگ‌های هپارینه گرفته شد. سپس لنفوسیت‌های خون محیطی

### آنالیز آماری

تمامی داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS-20 تحلیل شدند و متغیرهای پارامتری با استفاده از آزمون تی مقایسه شدند.  $p < 0/05$  نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلاف میان داده‌هاست.

### یافته‌ها

#### گروه بیماران و RM

در این مطالعه آنالیز کروموزومی ۱۷۵ زوج واجد سقط مکرر انجام گردید. میانگین حاملگی هر زوج  $3/4$  و انحراف معیار  $2/56$  بود. سن زوج‌های مورد بررسی در محدوده ۱۵ تا ۴۹ سال (با میانگین سنی  $31/2$  و انحراف معیار  $5/29$ )؛ و همچنین تعداد سقط‌ها بین ۲ تا ۷ (با میانگین سقط  $2/7$  و انحراف معیار  $1/6$  برای هر زوج) بود. بیش‌ترین فراوانی مربوط به زوج‌های واجد دو سقط مکرر بود ( $3/50$ ) و سپس زوج‌های دارای سه سقط که  $30/8$  درصد جمعیت مورد مطالعه را تشکیل می‌دادند (جدول ۱).

#### آنالیز کروموزومی

به دنبال آنالیز سیتوژنتیکی بازآرایی‌های کروموزومی در ۱۸ مورد یافت شد که ۸ نفر از آن‌ها مرد ( $44/4$ ) و ۱۰ نفر زن ( $55/6$ ) بودند (جدول ۲). در میان ناهنجاری‌های کروموزومی (۱۸ مورد)، ۱۳ مورد ( $72/2$ ) ناهنجاری ساختاری و ۵ مورد ( $27/8$ ) ناهنجاری تعدادی (آنیوپلوئیدی) تشخیص داده شدند. شیوع سندرم X سه‌گانه، واژگونی، حذف، جابجایی رابرتسونین، جابجایی‌های دو طرفه، موزایسم، جابجایی‌های یک‌طرفه به ترتیب  $29/0$ ،  $57/0$ ،  $14/1$ ،  $71/1$  درصد گزارش شد.

جابه‌جایی‌های دوطرفه در ۲ مورد مشاهده گردید (اشکال ۱ و ۲). جابه‌جایی‌های یک‌طرفه فراوان‌ترین ناهنجاری‌های مشاهده‌شده در این مطالعه بودند (۶ مورد شامل:  $46,XY,ins(9;3)$  -  $46,XY,ins(7;14)$  -  $46,XY,ins(10;11)$  -  $46,XY,ins(22;11)$ )

در محیط کشت RPMI حاوی آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین کشت داده شدند. برای تحریک تقسیم سلولی و رشد سلول‌ها به ترتیب دو ماده FBS<sup>۱</sup> و PHA<sup>۲</sup> به محیط کشت افزوده شد و به مدت ۷۲ ساعت انکوباسیون در دمای  $37^{\circ}C$  انجام گرفت. سپس برای توقف متافاز، محلول کالسمید به نمونه‌ها اضافه شد. در مرحله بعدی، پتاسیم کلرید (KCl) جهت فراهم نمودن یک محیط هایپوتونیک و در دسترس قرار گرفتن گستره‌های کروموزومی اضافه گردید و نمونه‌ها با سرعت  $1200\text{rpm}$  سانتریفیوژ شدند. سپس جهت پاک‌سازی محیط از اجساد گلبول‌های قرمز و مواد اضافی محلول FIX (متانول-اسیداستیک) به محیط افزوده و لام‌گیری انجام شد. در مرحله بعدی آنزیم افزوده شد و رنگ آمیزی لام‌ها با محلول رنگی گیمسا انجام گرفت. در مرحله پایانی، گستره‌های کروموزومی با توجه به روش سیتوژنتیک استاندارد با استفاده از روش نواربندی G آنالیز شدند. کروموزوم‌های مختلف از لحاظ انواع ناهنجاری‌های تعدادی (آنیوپلوئیدی) و ساختاری مورد مطالعه قرار داده شدند. جابجایی‌های کروموزومی، حذف ساختاری، وارونگی، تریزومی و مونوزومی در افراد مراجعه‌کننده، متغیرهای مورد بررسی این مطالعه بشمار می‌روند. برای هر بیمار حداقل ۳۰ متافاز آنالیز شد. در مواردی که دارای موزایسم بودند این تعداد به ۵۰ متافاز افزایش یافت. در پژوهش حاضر سیستم نرم‌افزاری مورد استفاده جهت آنالیز اتوماتیک کروموزوم‌ها ASI<sup>۳</sup> می‌باشد. ناهنجاری‌ها با وضوح ۵۵۰ باند مشخص شدند. ناهنجاری‌های کروموزومی تشخیص‌داده‌شده توسط مسئول فنی و مسئول آنالیز سیتوژنتیکی آزمایشگاه ژنتیک بیمارستان امام خمینی (ره) اردبیل، همچنین مسئول آنالیز سیتوژنتیکی آزمایشگاه ژنتیک پزشکی هما تایید شده است.

<sup>1</sup> Fetal Bovine Serum

<sup>2</sup> Phytohemagglutinin

<sup>3</sup> Applied Spectral Imaging

46,XX,ins(15;13)-46,XX,ins(5;16) (اشکال ۷-۳).

یک مورد حذف بینابینی (شکل ۸) و یک مورد واژگونی پری سنتریک (شکل ۹) نیز مشاهده گردید. بیشترین فراوانی ناهنجاری‌های کروموزومی در افراد دارای دو سقط جنین مشاهده شد (۷۲/۲٪، ۱۳ از ۱۸ مورد). سن افراد مورد مطالعه در سه گروه طبقه‌بندی شدند: کمتر از ۳۰ سال، بین ۳۰ تا ۳۵ سال و بیشتر از ۳۵ سال. سن بیشتر بیماران حامل ناهنجاری‌های کروموزومی (۷۲/۲٪، ۱۳ از ۱۸ مورد) ۳۵ سال یا کمتر بود (جدول ۲). ارتباطی بین سن افراد و فراوانی ناهنجاری‌های کروموزومی دیده نشد. از میان موارد مورد مطالعه، یک زوج (مرد و زن) واجد جابجایی رابرتسونین و در زوج دیگر، مرد واجد جابجایی یک‌طرفه و زن واجد موزایک مونوزومی ۲۱ بودند.

#### نسبت خویشاوندی

در این مطالعه حدود ۴۰ درصد از زوجها (۷۲ زوج) با همدیگر نسبت خویشاوندی داشتند. در حالی که ۱۰۳ زوج (۵۸/۹٪) هیچ‌گونه نسبت خویشاوندی باهم

نداشتند. ۵۵ زوج (۷۶/۴٪) درجه خویشاوندی سه، ۱۰ زوج (۱۳/۹٪) درجه خویشاوندی چهار و ۷ زوج (۹/۷٪) درجه خویشاوندی پنج داشتند. در میان ۱۸ زوج واجد عضوی با کاریوتایپ غیرطبیعی مشاهده‌شده، ۱۱ زوج (۶۱٪) با همدیگر نسبت خویشاوندی داشتند؛ درحالی که در ۷ زوج دیگر (۳۹٪) هیچ‌گونه نسبت خویشاوندی برقرار نبود. ارتباط معناداری (۰/۰۴۳) بین ازدواج‌های خویشاوندی و ناهنجاری‌های کروموزومی به دست آمد. با این حال، ارتباط بین تعداد سقط‌ها و خویشاوند بودن از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول ۳).

جدول ۱. بررسی فراوانی تعداد سقط جنین در زوجین مورد مطالعه

تعداد سقط جنین	فراوانی	درصد
۲	۸۸	۵۰/۳
۳	۵۴	۳۰/۸
۴	۲۲	۱۲/۶
۵	۸	۴/۶
۶	۲	۱/۱
۷	۱	۰/۶
جمع	۱۷۵	۱۰۰

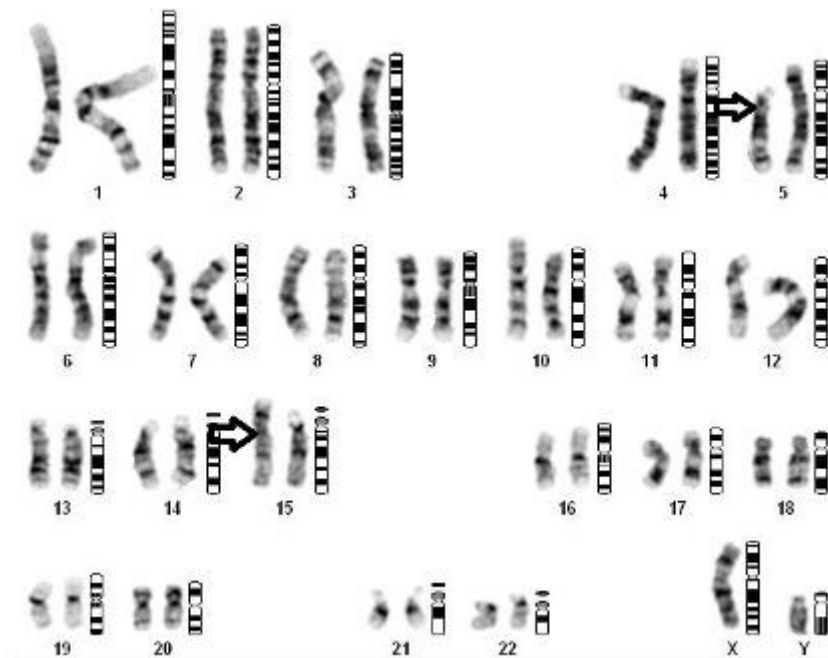
جدول ۲. کاریوتایپ، سن و تعداد سقط افراد دارای ناهنجاری کروموزومی

ردیف	ناهنجاری کروموزومی	سن	تعداد سقط جنین
جابجایی دوطرفه			
۱	46,XY,t(5;15)(p11pter;p11.1pter)	۳۵	۲
۲	46,XX,t(1;2)(q24;q32)	۳۹	۲
جابجایی یک‌طرفه			
۱	46,XY,ins(22;11)(q13.2qter; qter)	۳۴	۲
۲	46,XY,ins(10;11)(q25qter; qter)	۳۲	۳
۳	46,XX,ins(15;13)(q22;q21q22)	۲۲	۴
۴	46,XX,ins(5;16)(qter;p13.1pter)	۲۱	۴
۵	46,XY,ins(9;3)(p13;q24qter)	۴۰	۲
۶	46,XY,ins(7;14)(q33;q11.1qter)	۳۱	۲
جابجایی رابرتسونین			
۱	45,XY,rob(13; 14)	۳۴	۲
۲	45,XX,rob(13; 14)	۳۲	۲
حذف			
۱	46 XX[27]/46XX del(X)(q23)[13]	۳۴	۳
۲	46,XY,del(22p)	۳۸	۲

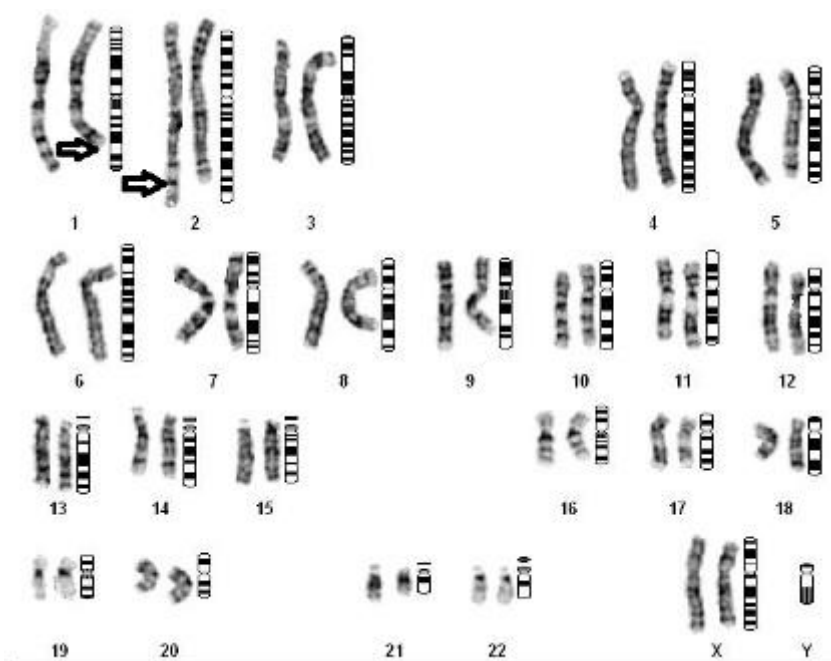
		وارونگی	
۲	۴۰	46,XX,inv(9)(p12q13)	۱
		آنیپلوئیدی	
۲	۳۸	47,XXX	۱
۲	۳۴	46,XX[35]/45,X[4]	۲
۳	۲۸	46,XX[46]/45,XX,-21[4]	۳
۲	۳۵	46,XX[38]/48,XXX,+13[3]/44,X,-13[3]	۴
۲	۲۸	46,XY[37]/45,XY,-20[2]/45,XY,-16, del(Xq13)[1] /47,XY,+18[1]	۵
جمع کل: ۱۸ از ۳۵۰ مورد (۵/۱۴)			

جدول ۳. مشخصات بیماران دارای ناهنجاری کروموزومی و سقط مکرر

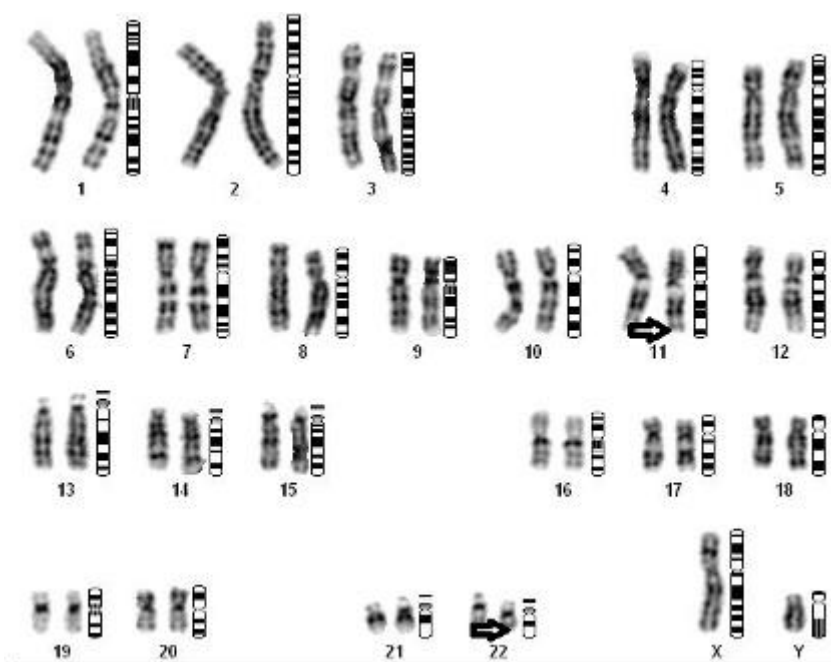
P value	واجد ناهنجاری‌های کروموزومی	کاریوتایپ نرمال	جنس زوجین
۰/۴۷۵	۸	۱۶۷	مذکر
	۱۰	۱۶۵	مؤنث
۰/۳۶۵	۱۷	۲۶۷	تعداد سقط ۳
	۱	۶۵	> ۳
۰/۰۴۳	۱۱	۱۳۳	نوع ازدواج خویشاوندی
	۷	۱۹۹	غیر خویشاوندی



شکل ۱. کاریوتایپ مردی با جابجایی دوطرفه بین کروموزوم‌های ۵ و ۱۵ (46,XY,t(5;15)(p11pter; p11.1pter))

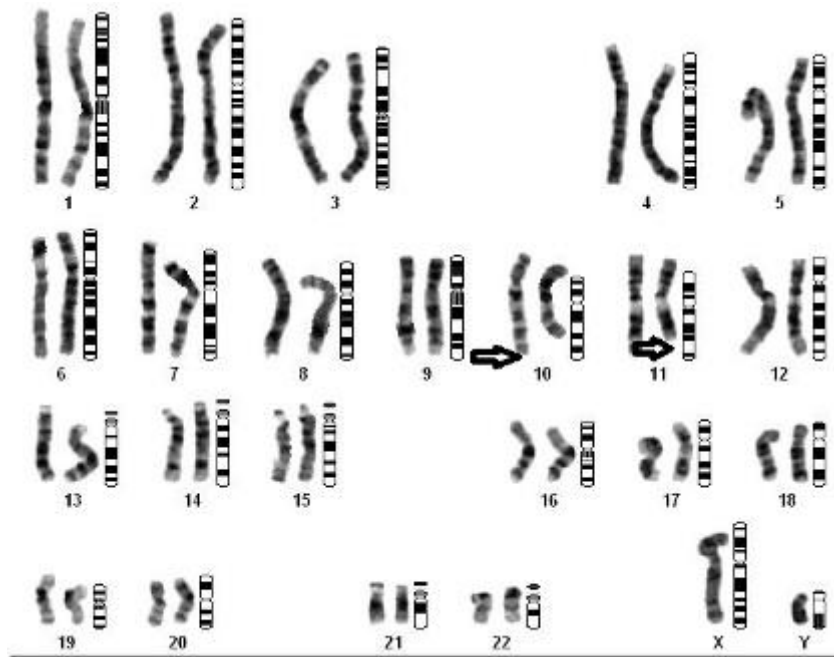


شکل ۲. کاریوتایپ زنی با جابجایی دوطرفه بین کروموزوم‌های ۱ و ۲ (۴۶,XX,t(1;2)(q24;q32))

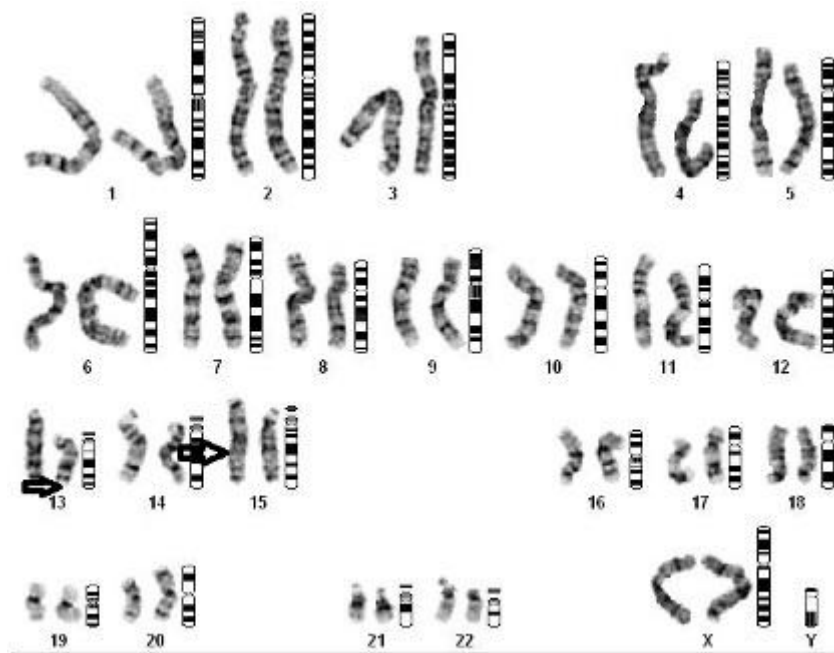


شکل ۳. کاریوتایپ مردی با جابجایی یک طرفه از کروموزوم ۱۱ به ۲۲ (۴۶,XY,ins(22;11)(q13.2qter; qter))

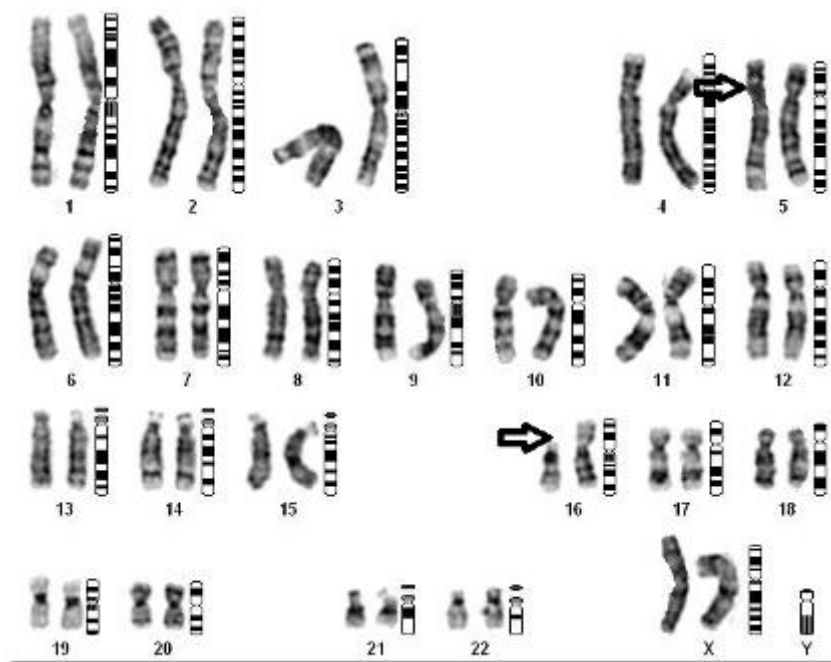




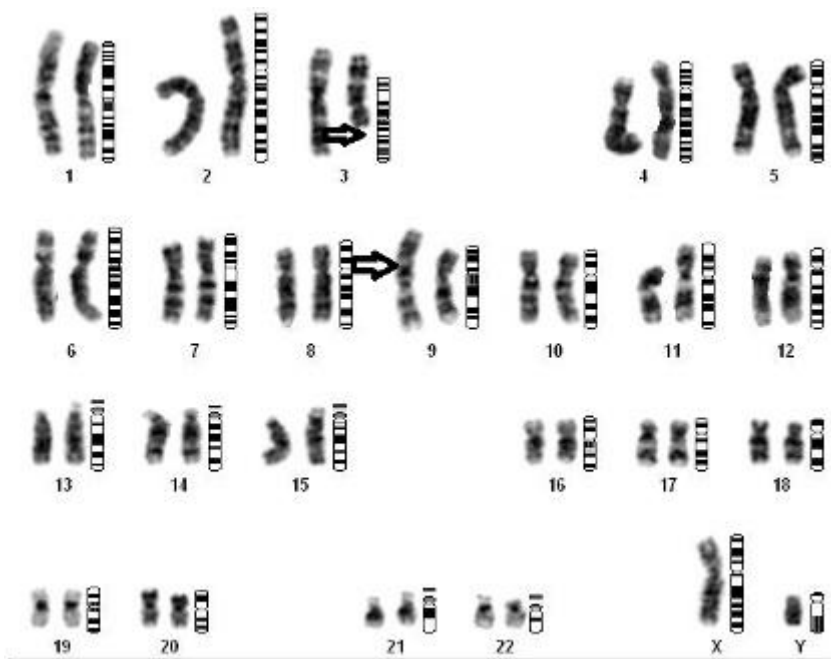
شکل ۴. کاریوتایپ مردی با جابجایی یک طرفه از کروموزوم ۱۱ به ۱۰ (46,XY,ins(10;11)(q25qter; qter))



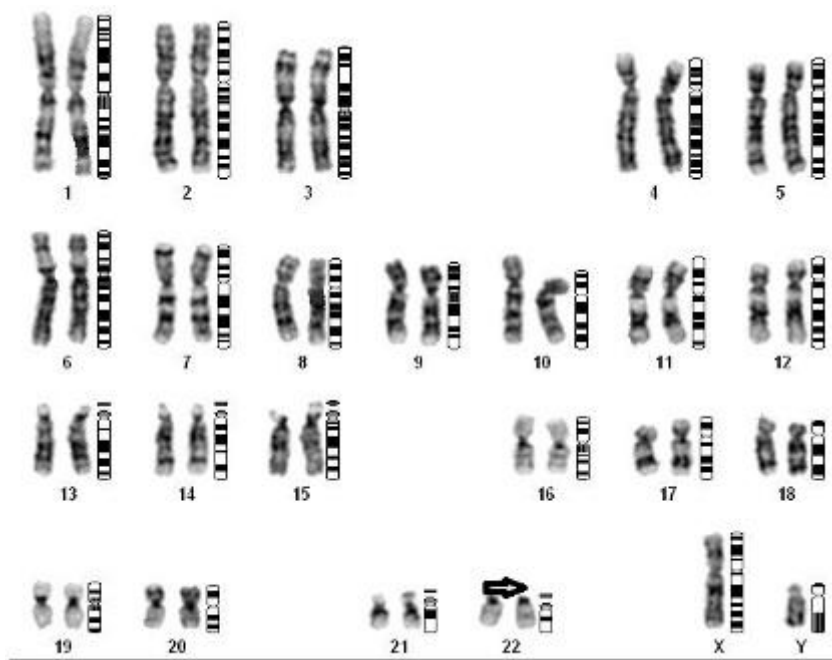
شکل ۵. کاریوتایپ زنی با جابجایی یک طرفه از کروموزوم ۱۳ به ۱۵ (46,XX,ins(15;13)(q22;q21q22))



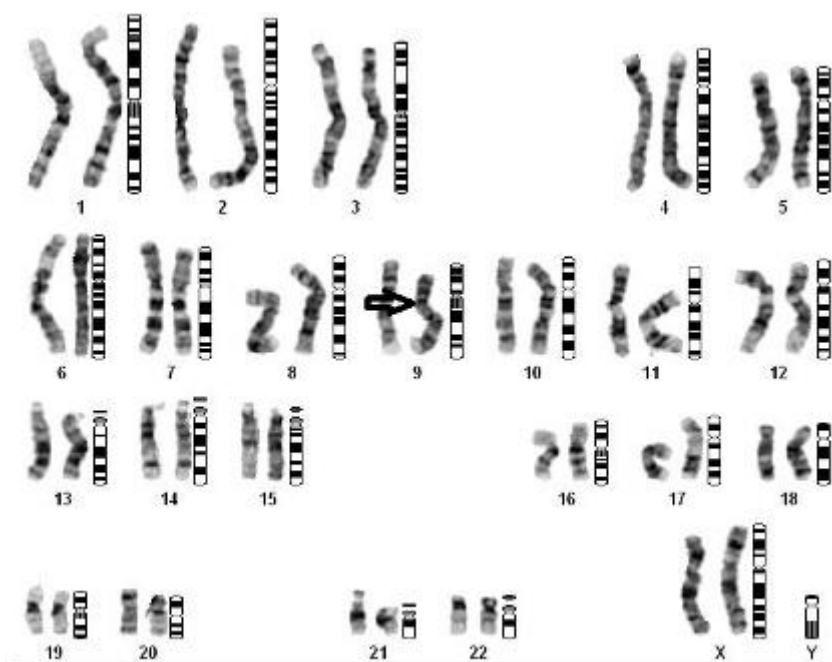
شکل ۶. کاریوتایپ زنی با جابجایی یک طرفه از کروموزوم ۱۶ به ۵ (46,XX,ins(5;16)(qter;p13.1pter))



شکل ۷. کاریوتایپ مردی با جابجایی یک طرفه از کروموزوم ۳ به ۹ (46,XXY,ins(9;3)(p13;q24qter))



شکل ۸. کاریوتایپ مردی با حذف بازوی کوتاه کروموزوم ۲۲ (46,XY,del(22p))



شکل ۹. کاریوتایپ زنی با وارونگی پری سنتریک کروموزوم ۹ (46,XX,inv(9)(p12q13))

### بحث

سقط‌های مکرر، بارداری‌های قابل تشخیص بالینی هستند که به خاطر عوامل مختلف از جمله دلایل کروموزومی، ژنتیکی، آناتومیک، ایمنی و یا عوامل

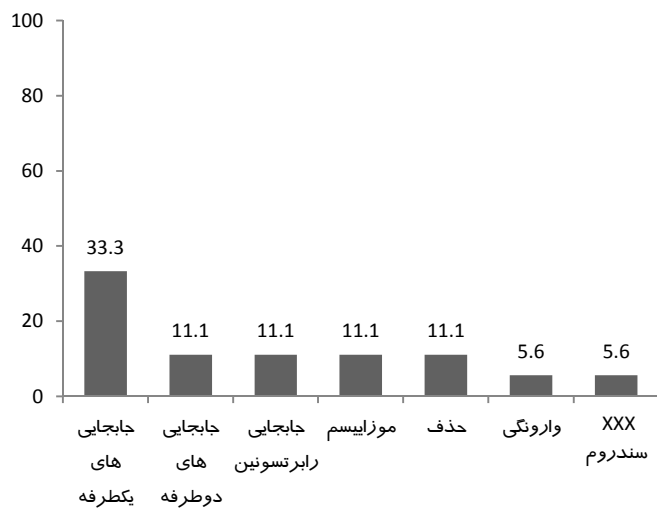
عفونی قادر به پیشرفت نیستند [۲۰]. حدود ۵ درصد از زوجین با مشکل سقط مکرر خودبخودی مواجه می‌شوند [۱]. ناهنجاری‌های ژنتیکی و کروموزومی از جمله شایع‌ترین عواملی هستند که منجر به سقط

ناهنجاری‌ها در این زوج‌ها بیشتر از زوج‌های عادی و بدون سقط است [۲۴].

در مطالعه حاضر، ارتباط ناهنجاری‌های کروموزومی با سقط و همچنین ارتباط ازدواج‌های خویشاوندی با سقط، بررسی و ۶ مورد درج‌شدگی نادر گزارش شده است.

میزان ناهنجاری‌های مشاهده‌شده در افراد دارای سقط مکرر ۵/۱۴ درصد بود که با مطالعات انجام‌شده قبلی تا حدودی مطابقت داشت، هر چند در بعضی موارد ناهنجاری‌های کروموزومی بالای ۱۰ درصد گزارش شده است (جدول ۴).

در مطالعه حاضر، نسبت ناهنجاری‌های کروموزومی زن به مرد ۱: ۱/۲ است. در میان گروه بیماران، بیشتر از ۵۵ درصد از بیماران انواع مختلفی از جابجایی‌ها را نشان دادند (نمودار ۱). این مطلب همانند گزارش‌های قبلی نشان‌دهنده ارتباط قوی ناهنجاری‌های کروموزومی (عمدتاً جابجایی‌ها در والدین) با دفعات مکرر سقط است.



نمودار ۱. توزیع فراوانی ناهنجاری‌های کروموزومی

درج‌شدگی‌ها یا جابجایی‌های یک‌طرفه (بازآرایی‌های نادر ناشی از یک مکانیسم شکست سه‌جانبه) می‌توانند درون یا بین کروموزومی باشند.

در یک درج‌شدگی بین کروموزومی یا جابجایی درج‌شدگی، مانند ۶ مورد حاضر در این مطالعه (شکل

مکرر و بارداری‌های ناموفق می‌شوند [۱۴، ۱۹، ۲۱]. ناهنجاری‌های کروموزومی والدین از مهم‌ترین دلایل ژنتیکی موثر در بیماری‌زایی سقط مکرر است [۲۱]. حدود ۵۰ تا ۶۰ درصد سقط‌های خودبخودی سه ماهه اول بارداری دارای کاریوتایپ ناهنجار هستند [۲۲]. علاوه بر این، میزان بالایی از ازدواج‌های خویشاوندی در جمعیت استان اردبیل اتفاق می‌افتد. این نوع از ازدواج‌ها بستر مناسبی برای بروز ژن‌های نهفته و مغلوب هستند [۱۸].

بر اساس مقالات منتشرشده، شیوع ناهنجاری‌های کروموزومی در میان زوج‌های دارای RSA، از ۰ تا ۲۱/۴ درصد در مطالعات مختلف متغیر است [۲۳]. این تفاوت به دلیل اختلاف در اندازه نمونه و شاخص‌های گوناگون مورد استفاده برای بررسی نمونه‌ها است. اگرچه فراوانی ناهنجاری‌های کروموزومی در زوج‌های دارای RSA در میان جمعیت‌های مختلف متفاوت است، ولی این

زیرا در طول میوز افراد حامل جابجایی‌های متعادل، جداسازی کروموزوم‌ها ممکن است باعث ایجاد گامت‌های نامتعادل شود. یک زیگوت (و در نهایت جنین) با کاریوتایپ نامتعادل ممکن است منجر به سقط خودبخودی شود [۵].

کروموزوم X مشخص می‌شود. این سندرم، تنها ناهنجاری است که بیش‌ترین شیوع را در سقط‌ها دارد و ۲۰ درصد سقط‌های خودبخودی ناشی از ناهنجاری کروموزومی را تشکیل می‌دهد، اما کمتر از ۱ درصد تولدهای زنده حاصل از ناهنجاری‌ها را به خود اختصاص می‌دهد [۲۱]. سقط مکرر، مرگ جنین پری‌ناتال و یا نوزادانی که ناقص شناخته می‌شوند به طور مکرر در بیماران TS رخ می‌دهند [۳۱]. فراوانی کم سندرم ترنر در بیماران دارای سقط مکرر، به این علت است که بیماران ترنر به داشتن سقط مکرر شناخته‌شده هستند و به طور معمول برای این علت مراجعه نمی‌کنند [۳۲].

یک مورد تریزومی X در مطالعه حاضر مشاهده شد. تاکنون، شایع‌ترین نقایص کروموزوم جنسی در نوزادان متولدشده و در جنین‌ها انواع تریزومی (YYY, XXX, XXY) هستند، اما هر سه این‌ها در سقط خودبه‌خود نادر هستند. در مقابل، مونوزومی X (سندرم ترنر) از فراوانی کمتری در نوزادان زنده متولدشده برخوردار است اما شایع‌ترین ناهنجاری کروموزومی گزارش‌شده در سقط‌های خودبه‌خود است [۳۳].

مونوزومی‌های اتوزومال در سقط‌های خودبخودی معمولاً نادر هستند [۳۴]؛ و در این میان مونوزومی ۲۱ شایع‌ترین مونوزومی اتوزومال است [۳۵]. در مطالعه حاضر ۱۱/۱ درصد از کاریوتایپ‌های ناهنجار شامل مونوزومی‌ها است (۲ از ۱۸ مورد)؛ یک مورد موزایک مونوزومی ۲۱ و یک مورد مونوزومی X و ۱۳ به صورت موزایک با تریزومی X و ۱۳.

همان‌طور که در جدول ۴ نشان داده شده است، نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج حاصل از پژوهش‌های راجانگام و همکاران [۳۶] و فرینس و همکاران [۲]، مشابهت دارد.

اگرچه میزان ناهنجاری‌های ساختاری و تعدادی در مطالعات مختلف متغیر است ولی همه این مطالعات نشان‌دهنده بالا بودن میزان ناهنجاری‌های ساختاری

بخشی از یک کروموزوم از محل طبیعی خود حذف و به یک کروموزوم غیرهمولوگ (ناهمسان) ملحق می‌شود. به خاطر سه شکست پیچیده، این مورد به عنوان بازآرایی‌های کروموزومی پیچیده (<sup>1</sup>CCR) طبقه‌بندی می‌شود. با توجه به بررسی‌های قبلی، درج‌شدگی‌های بین کروموزومی (<sup>2</sup>ICIs) با شیوع تخمینی ۱ در ۸۰۰۰۰ رخ می‌دهند [۲۵]. تشکیل گامت متعادل، نامتعادل و نرمال به نقاط شکست و کروموزوم‌های درگیر در جابجایی بستگی دارد [۲۶].

زوجی که در این مطالعه ناهنجاری کروموزومی رابرتسونین را نشان دادند رابطه خویشاوندی داشتند که با مطالعه حسن‌زاده نظرآبادی و همکاران مطابقت داشت. با توجه به نتایج مطالعه ذکر شده محتمل است که بین رابطه خویشاوندی و رابرتسونین یک همبستگی وجود دارد [۲۷]. فراوانی جابجایی رابرتسونین در جمعیت عادی ۰/۱ درصد و در زوج‌های دارای سقط مکرر ۱/۱ درصد است [۲۸].

در میان بیماران حامل ناهنجاری‌های کروموزومی این مطالعه، یک مورد وارونگی پری‌سنتریک وارونگی  $inv(9)(p12q13)$  یافت شد (شکل ۹). وارونگی پری‌سنتریک نوعی از بازآرایی‌های کروموزومی کوچک است که با فنوتیپ غیرطبیعی همراه نیست. بیشتر پژوهشگران وارونگی کروموزوم ۹ را به عنوان پلی‌مورفیسم کروموزومی خوش‌خیم در نظر می‌گیرند [۲۹]. اگر چه وارونگی کروموزوم ۹ مدت زیادی است که به عنوان واریانت طبیعی در نظر گرفته می‌شود و به عنوان ناهنجاری کروموزومی تلقی نمی‌شود [۳۰]، اما با توجه به نتایج کاریوتایپ غیرطبیعی بیمار، در این گروه طبقه‌بندی شده است.

سندرم ترنر (TS) ناهنجاری کروموزومی دیگری است که در گروه بیماران ما گزارش شده است و معمولاً با از دست دادن کل یا قسمتی از یکی از دو

<sup>1</sup> Complex Chromosomal Rearrangements

<sup>2</sup> Interchromosomal Insertions

نسبت به ناهنجاری‌های تعدادی است (جدول ۴). در مطالعه حاضر نیز درصد ناهنجاری‌های ساختاری بیشتر از ناهنجاری‌های تعدادی بود که با نتایج موجود در جدول ۴ مشابهت دارد.

جدول ۴. مقایسه فراوانی ناهنجاری‌های کروموزومی مطالعه شده توسط سایر محققین با مطالعه حاضر

پژوهشگران	کل نمونه‌ها	کل ناهنجاری‌ها	درصد	ساختاری	%	تعدادی	درصد
پژوهش حاضر	۳۵۰	۱۸	۵/۱۴	۱۳	۷۲/۲	۵	۲۷/۸
Ref. [۳۷]	۱۴۸۴	۳۱	۲	۲۲	۷۰/۹۶	۹	۲۹/۰۳
Ref. [۳۸]	۳۲۰	۱۸	۱۱/۲۵	-	-	-	-
Ref. [۳۹]	۱۷۹	۲۱	۱۱/۷۴	۳	۱۴/۲۸	۱۵	۷۱/۴۲
Ref. [۴۰]	۹۹۰	۲۸	۲/۸	۲۶	۹۲/۹	۲	۷/۱
Ref. [۳۶]	۳۳۳۲	۸۳	۴/۴	۴۹	۵۹	۳۴	۴۱
Ref. [۲]	۲۱۳۶	۵۹	۵/۵	۳۳	۵۵/۹۳	۶	۱۰/۱۶
Ref. [۴۱]	۱۸۳۲	۵۲	۲/۷۶	۴۳	۸۲/۶۹	۹	۱۷/۳
Ref. [۴۲]	۲۳۲۴	۷۸	۳/۳۵	۳۳	۴۲/۳۱	۱	۱/۲۸
Ref. [۳۲]	۱۷۱	۱۳	۷/۶	۱۲	۹۲/۳	۱	۷/۷

### سن، خویشاوندی و RM

محدوده سنی بیماران این مطالعه ۱۵ تا ۴۹ سال است. سن اکثر بیماران (۷۲/۲٪؛ ۱۳ از ۱۸ مورد) شناسایی شده به عنوان حاملان ناهنجاری‌های کروموزومی زیر ۳۵ سال است (جدول ۲). این بیماران در جوامع سنتی مانند اردبیل، با فشار اجتماعی قابل توجهی برای داشتن فرزند مواجه بودند. این شرایط عامل موثری در افزایش میانگین حاملگی (تقریباً ۳) حتی در سنین نسبتاً پایین است. در مقایسه با جوامع دیگر که نداشتن فرزند یکی از گرایش‌های جدید در شیوه زندگی است، چنین فشار اجتماعی برای زاد و ولد جالب توجه است [۴۳، ۴۴].

از میان ۱۷۵ زوج مبتلا به سقط مکرر، حدود ۴۰ درصد زوج‌ها خویشاوند بودند (جدول ۳). اگرچه این نوع ازدواج‌ها تا حدودی کاهش یافته‌اند، اما هنوز به عنوان عامل افزایش بیماری‌های ژنتیکی مغلوب و اختلالات باروری و تکاملی مانند ناباروری، سقط‌جین و اختلالات مادرزادی شمرده می‌شوند [۱۹].

در مطالعه حاضر ارتباط معنی‌دار بین ازدواج خویشاوندی و ناهنجاری‌های کروموزومی این موضوع را تأیید می‌کند که RM به جای سن بالای والدین و

عوامل دیگر، عمدتاً به دلیل بی‌ثباتی ژنومی در ناهنجاری‌های کروموزومی بیماران زیر ۳۵ سال اتفاق می‌افتد. از سوی دیگر، هیچ همبستگی قابل توجهی بین تعداد RM و ازدواج خویشاوندی به دست نیامد.

در این مطالعه همچنین ارتباط سن و تعداد سقط‌جین بررسی شد ( $p=۰/۰۲۱۹$ ). داده‌ها نشان می‌دهد بین سن و تعداد سقط‌جین رابطه معنی‌داری وجود دارد و با بالا رفتن سن تعداد سقط‌جین افزایش می‌یابد. با این حال، به نظر می‌رسد افزایش سن علت اصلی RM در زوج‌های بالای ۳۵ سال است چرا که فقط ۲۷/۸ درصد (۵ از ۱۸ مورد) از بیماران حامل ناهنجاری‌های کروموزومی بیش‌تر از ۳۵ سال سن داشتند. در واقع، فراوانی سقط‌جین یقیناً با افزایش سن پدر یا مادر ارتباط دارد [۴۵]. این افزایش سن (بیشتر از ۳۵ و ۴۰ سال به ترتیب برای زنان و مردان) دلیل ناهنجاری‌های کروموزومی و ژنتیکی در طول گامتوژنز، لقاح و اوایل رشد و نمو جنین شناخته شده است [۴۶]. چنین تغییرات ژنتیکی در جنین، ناپایداری ژنومی و در نتیجه سقط مکرر را القا می‌کند. قدرت تفکیک پایین روش کاربوتایپ نسبت به روش‌های مولکولی که باعث عدم شناسایی تغییرات کوچک

مراجعه کنند. با توجه به انتقال ارثی این ناهنجاری‌های کروموزومی، آنالیز سیتوژنتیکی و مشاوره ژنتیکی برای همه خواهر و برادرها قبل از ازدواج توصیه می‌شود.

همچنین با توجه به نتایج به دست آمده احتمالاً ازدواج‌های خویشاوندی در بروز سقط‌های مکرر خودبخودی نقش دارند. آگاهی زوج‌ها از پیامدهای ازدواج خویشاوندی و انجام مشاوره‌های ژنتیکی ضروری است. محققین این مطالعه معتقدند که رویکرد مشارکت بین متخصصین زنان و زایمان، متخصصین ژنتیک، دانشمندان و روانشناسان با برنامه آگاهی مؤثر به کاهش نرخ RM کمک می‌کند.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از دانشگاه علوم پزشکی اردبیل و کادر فنی آزمایشگاه ژنتیک بیمارستان امام خمینی (ره) و آزمایشگاه ژنتیک پزشکی هما، خانم رویا بخشی، خانم عفت سید هاشمی، خانم لیلا تره‌باری و آقای تقی بدلی به خاطر همکاری در تهیه این مقاله صمیمانه تقدیر و تشکر می‌گردد.

کروموزومی و ناهنجاری‌های مربوط به ژن (مانند ناهنجاری‌های تک ژنی) می‌شود از جمله محدودیت‌های این پژوهش می‌باشد.

سندرم‌های تک ژنی بسیاری می‌تواند به عنوان علل سقط مطرح باشند که شیوع آن‌ها در ازدواج‌های خویشاوندی بالا است، عدم غربال این سندرم‌ها می‌تواند یک عامل مخدوش‌کننده باشد. پیشنهاد می‌شود به منظور بررسی این سندرم‌ها زوج‌های خویشاوند دارای RM مورد بررسی‌های مولکولی قرار گیرند.

### نتیجه‌گیری

بروز ناهنجاری‌های کروموزومی نشان می‌دهد که آنالیز کروموزومی زوج‌های دارای سقط خودبخودی مکرر باید به عنوان یک امر مهم در نظر گرفته شود. همچنین به دلیل طبیعی بودن کاریوتایپ تعداد بالایی از جمعیت مطالعه شده، انجام بررسی‌های مولکولی و سیتوژنتیک مولکولی مؤثر خواهد بود. این مطالعه همچنین تاکید می‌کند که افراد دارای جابجایی‌های متعادل باید هنگام بارداری، برای جلوگیری از ناهنجاری‌های جنین، به مراکز ژنتیکی

### References

- 1- Schug SA1- Fan H, Zhang M, Zhan P, Yang X, Tian W, Li R. Structural chromosomal abnormalities in couples in cases of recurrent spontaneous abortions in Jilin Province, China. *Genet Mol Res*. 2016 Jan; 15(1): 1-7.
- 2- Fryns J, Van Buggenhout G. Structural chromosome rearrangements in couples with recurrent fetal wastage. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1998 Dec; 81(2):171-6.
- 3- Jaslow CR, Carney JL, Kutteh WH. Diagnostic factors identified in 1020 women with two versus three or more recurrent pregnancy losses. *Fertil Steril*. 2010 Mar; 93(4): 1234-43.
- 4- McNamee K, Dawood F, Farquharson RG. Evaluation of array comparative genomic hybridization in recurrent miscarriage. *Br J Hosp Med (Lond)*. 2013 Jan; 74(1): 36-40.
- 5- Tunç E, Tanrıverdi N, Demirhan O, Süleymanova D, Çetinel N. Chromosomal analyses of 1510 couples who have experienced recurrent spontaneous abortions. *Reprod Biomed Online*. 2016 Apr; 32(4):414-19.
- 6- Dong Y, Li L, Wang R, Yu X, Yun X, Liu R. Reproductive outcomes in recurrent pregnancy loss associated with a parental carrier of chromosome abnormalities or polymorphisms. *Genet Mol Res*. 2014 Jan; 13(2):2849-56.
- 7- Al-Hassan S, Hellani A, Al-Shahrani A, Al-Deery M, Jaroudi K, Coskun S. Sperm chromosomal abnormalities in patients with unexplained recurrent abortions. *Arch Androl*. 2005 Jan- Feb; 51(1):69-76.

- 8- Weier H, Munne S, Lersch RA, Hsieh H, Smida J, Chen X, et al. Towards a full karyotype screening of interphase cells: 'FISH and chip' technology. *Mol Cell Endocrinol*. 2001 Oct; 183 Suppl 1: S41-5.
- 9- Magli MC, Gianaroli L, Crippa A, Munne S, Robles F, Ferraretti AP. Aneuploidies of chromosomes 1, 4, and 6 are not compatible with human embryos' implantation. *Fertil Steril*. 2010 Nov; 94(6):2012-6.
- 10- van den Boogaard E, Hermens RP, Verhoeve HR, Kremer JA, van der Veen F, Knegt AC, et al. Selective karyotyping in recurrent miscarriage: are recommended guidelines adopted in daily clinical practice? *Hum Reprod*. 2011 Aug; 26(8):1965-70.
- 11- Nussbaum R, McInnes R, Willard H, Hamosh A. *Thompson & Thompson Genetics in Medicine*, 8<sup>th</sup> ed. Philadelphia, PA: Elsevier, 2016:158-166.
- 12- Franssen MT, Korevaar JC, Van der Veen F, Leschot NJ, Bossuyt PM, Goddijn M. Reproductive outcome after chromosome analysis in couples with two or more miscarriages: case-control study. *BMJ*. 2006 Apr; 332(7544): 759-63.
- 13- Van Dyke DL, Weiss L, Roberson JR, Babu VR. The frequency and mutation rate of balanced autosomal rearrangements in man estimated from prenatal genetic studies for advanced maternal age. *Am J Hum Genet*. 1983 Mar; (35): 301-8.
- 14- Munne S, Magli C, Bahce M, Fung J, Legator M, Morrison L, et al. Preimplantation diagnosis of the aneuploidies most commonly found in spontaneous abortions and live births: XY, 13, 14, 15, 16, 18, 21, 22. *Prenat Diagn*. 1998 Dec; 18(13):1459-66.
- 15- Nussbaum R, McInnes R, Willard H, Hamosh A. *Thompson & Thompson Genetics in Medicine*, 8<sup>th</sup> ed. Philadelphia, PA: Elsevier, 2016: 164-210.
- 16- Uehara S, Akai Y, Takeyama Y, Takabayashi T, Okamura K, Yajima A. Pericentric inversion of chromosome 9 in prenatal diagnosis and infertility. *Tohoku J Exp Med*. 1992; 166(4): 417-27.
- 17- Vallian Borujeni S. Assessment of recurrent miscarriage and the importance of genetic factors. *J Lab Diagn*. 2014; 6 (25): 36-41. [Full Text in Persian].
- 18- Hamamy H. Consanguineous marriages. *J Community Genet*. 2012 Jul; 3(3): 185-192.
- 19- Tadmouri GO, Nair P, Obeid T, Al Ali MT, Al Khaja N, Hamamy HA. Consanguinity and reproductive health among Arabs. *Reprod Health*. 2009 Oct; 6: 17.
- 20- ASRM. Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2012 Nov; 98(5): 1103-11.
- 21- Hassold TJ. A cytogenetic study of repeated spontaneous abortions. *Am J Hum Genet*. 1980 Sep; 32(5): 723-30.
- 22- Ghazaey S, Keify F, Mirzaei F, Maleki M, Tootian S, Ahadian M, et al. Chromosomal analysis of couples with repeated spontaneous abortions in northeastern Iran. *Int J Fertil Steril*. 2015 Apr- Jun; 9(1):47-54.
- 23- Kavalier F. Investigation of recurrent miscarriages. *BMJ*. 2005 Jul; 331(7509):121-2.
- 24- Turki R, Assidi M, Banni H, Zahed H, Karim S, Schulten H, et al. Associations of recurrent miscarriages with chromosomal abnormalities, thrombophilia allelic polymorphisms and/or consanguinity in Saudi Arabia. *BMC Med Genet*. 2016 Oct; 17(Suppl 1): 69.
- 25- Chellat D, Rezgoune ML, Hamane D, Abadi N, Satta D. Interchromosomal Insertion 46, XY, ins (1;2) (p31; p13p23) in an Algerian Patient with Spermatogenic Failure. *Int J Pharm Sci Rev Res*. 2015 Nov; 35(2):116-119.
- 26- De P, Chakravarty S, Chakravarty A. Novel balanced chromosomal translocations in females with recurrent spontaneous abortions: Two case studies. *J Hum Reprod Sci*. 2015 Apr- Jun; 8(2): 114-17.
- 27- Hasanzadeh-NazarAbadi M, Baghbani F, Namazi I, Mirzaee S. Robertsonian translocation between chromosomes (no. 21/14) in relation to the history of spontaneous abortion in a family. *Iran J Reprod Med*. 2014 Aug; 12(8): 581-5.
- 28- Keymolen K, Staessen C, Verpoest W, Michiels A, Bonduelle M, Haentjens P, et al. A proposal for reproductive counselling in carriers of Robertsonian translocations: 10 years of experience with preimplantation genetic diagnosis. *Hum Reprod*. 2009 Jun; 24: 2365- 71.
- 29- Tibiletti MG, Simoni G, Terzoli GL, Romitti L, Fedele L, Candiani GB. Pericentric inversion of chromosome 9 in couples with repeated spontaneous abortion. *Acta Eur Fertil*. 1981 Sep;12(3):245-8.



- 30- Yamada K. Population studies of INV (9) chromosomes in 4,300 Japanese: incidence, sex difference and clinical significance. *Jpn J Hum Genet.* 1992 Dec; 37(4): 293-301.
- 31- Tarani L, Lampariello S, Raguso G, Colloridi F, Pucarelli I, Pasquino AM, et al. Pregnancy in patients with Turner's syndrome: Six new cases and review of literature. *Gynecol Endocrinol.* 1998 Apr; 12(2):83-7.
- 32- Elghezal H, Hidar S, Mougou S, Khairi H, Saad A. Prevalence of chromosomal abnormalities in couples with recurrent miscarriage. *Fertil Steril.* 2007 Sep; 88(3):721-3.
- 33- Nussbaum R, McInnes R, Willard H, Hamosh A. Thompson & Thompson Genetics in Medicine, 8<sup>th</sup> ed. Philadelphia, PA: Elsevier, 2016:211.
- 34- Goddijn M, Leschot NJ. Genetic aspects of miscarriage. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2000; 14: 855-865.
- 35- Menasha J, Levy B, Hirschhorn K, Kardon NB. Incidence and spectrum of chromosome abnormalities in spontaneous abortions: New insights from a 12-year study. *Genet Med.* 2005 Apr; 7(4):251-63.
- 36- Rajangam S, Tilak P, Aruna N. Rema devi. Karyotyping and counseling in bad obstetric history and infertility. *Iranian J Reprod Med;* 2007 Winter; 5(1):7-12.
- 37- Dubey S, Chowdhury M, Prahlad B, Kumar V, Mathur R, Hamilton S, et al. Cytogenetic causes for recurrent spontaneous abortions-An experience of 742 couples (1484 cases). *Indian J Hum Genet.* 2005 May ;11(2):94.
- 38- Rao L, Murthy K, Babu A, Venkata P, Deenadayal M, Singh L. Chromosome inversions and a novel chromosome insertion associated with recurrent miscarriages in South India. *Arch Gynecol Obstet.* 2005 Oct; 272(4):273-7.
- 39- Akgul M, Ozkinay F, Ercal D, Cogulu O, Dogan O, Altay B, et al. Cytogenetic abnormalities in 179 cases with male infertility in Western Region of Turkey: Report and review. *J Assist Reprod Genet.* 2009 Mar; 26(2-3):119-122.
- 40- Ocak Z, Ozlu T, Ozyurt O. Association of recurrent pregnancy loss with chromosomal abnormalities and hereditary thrombophilias. *Afr Health Sci.* 2013 Jun; 13(2):447-52.
- 41- Meza-Espinoza J, Ortiz Anguiano L, Rivera H. Chromosomal Abnormalities in Couples with Reproductive Disorders. *Gynecol Obstet Invest.* 2008 Jul; 66(4):237-40.
- 42- Dutta U, Rajitha P, Pidugu V, Dalal A. Cytogenetic abnormalities in 1162 couples with recurrent miscarriages in Southern region of India: report and review. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics.* 2011 Feb; 28(2):145-9.
43. Martins MV, Peterson BD, Almeida VM, Costa ME. Direct and indirect effects of perceived social support on women's infertility-related stress. *Hum Reprod.* 2011 Aug; 26(8):2113-21.
44. Doyle J, Pooley JA, Breen L. A phenomenological exploration of the childfree choice in a sample of Australian women. *J Health Psychol.* 2013 Mar; 18(3):397-407.
- 45- de la Rochebrochard E, Thonneau P. Paternal age and maternal age are risk factors for miscarriage; results of a multicentre European study. *Hum Reprod.* 2002 Jun; 17(6):1649-56.
- 46- Kleinhaus K, Perrin M, Friedlander Y, Paltiel O, Malaspina D, Harlap S. Paternal age and spontaneous abortion. *Obstet Gynecol.* 2006 Aug; 108(2):369-77.