Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 1:20 +0330 on Sunday November 28th 2021

مقاله پژوهشی

بررسی اهمیت تست کاریوتیپ در اولین سطح تشخیص بیماری‌های ژنتیکی: یک مطالعه مقطعی

فاطمه کشاورزی[1]

تاریخ دریافت ۱۳۹۷/۱۰/۱۴ تاریخ پذیرش ۱۳۹۷/۱۲/۱۷

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: بررسی کاریوتیپ در موارد متعددی به‌عنوان اولین گام در تشخیص اختلالات ژنتیکی می‌باشد. هدف از تحقیق حاضر بررسی کاریوتیپ تعدادی از افراد با موارد متعددی از احتمال یک اختلال ژنتیکی است.

مواد و روش‌ها: مطالعه حاضر از نوع توصیفی - مقطعی می‌باشد. پس از اخذ مجوزهای لازم و رضایت‌نامه‌ی کتبی از والدین افراد مبتلا به عقب‌ماندگی ذهنی و خود افراد با مشکلات ناباروری و مبتلا به سرطان، نمونه‌گیری به عمل آمد. از دویست فرد با سابقه سقط مکرر و ناباروری شامل ۱۲۴ زن و ۷۶ مرد،۴۰ فرد مبتلا به انواع سرطان‌ها به همراه ۱۸۰ فرد مبتلا به عقب‌ماندگی ذهنی، نمونه خون اخذ شد و سپس به روش سیتوژنتیک کاریوتیپ این افراد تعیین شد.

یافته‌ها: از ۱۸۰ نفر مبتلا به عقب‌ماندگی ذهنی (۶/۶درصد)۱۲ نفر ناقل یک اختلال کروموزومی (۸ نفر اختلال ساختاری و ۴ نفر سندرم x شکننده) و (۹۲/۴درصد)۱۷۲ نفر دارای کاریوتیپ سالم بودند. همچنین از ۲۰۰ فرد مبتلا به اختلال ناباروری و سقط‌جنین ۱۳۸(۶۹درصد) نفر کاریوتیپ سالم و ۶۲ (۳۱درصد) نفر دارای یکی از نقایص کروموزومی بودند. در میان ۴۰ بیمار مبتلا به سرطان تنها در ۲ مورد (۰،۸درصد) جابجایی کروموزومی مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: ۷۳ تغییر کروموزومی (۶۲ در ناباروری، ۸ در عقب‌ماندگی ذهنی، ۲ در سرطان و ۱ اختلال ساختاری شکنندگی X) در کاریوتیپ ۴۲۰ نفر مشاهده شد. این نتیجه لزوم انجام کاریوتایپ را با بیشترین اهمیت در مشکلات ناباروری و سقط‌جنین نشان می‌دهد در ارتباط با عقب‌ماندگی ذهنی و سرطان لزوم تحقیقات بیشتر است.

واژگان کلیدی: سقط‌جنین، ناباروری، کاریوتیپ، سرطان، عقب‌ماندگی ذهنی

مجله پزشکی ارومیه، دوره سی‌ام، شماره دوم، ص ۱۳۹-۱۳۰، اردیبهشت ۱۳۹۸

آدرس مکاتبه: واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران، تلفن:۰۸۷۳۳۲۸۷۶۵۲

Email: fkeshavarzi@iausdj.ac.ir

مقدمه

کاریوتیپ ارائه تصویری از کروموزوم‌های یک فرد است، تصاویر از طریق میکروسکوپ یا نرم‌افزار و در یک دیاگرامی از بزرگ به کوچک چیده شده‌اند. کروموزوم‌های متراکم شده‌ی سلول‌های در حال تقسیم انسان، در مرحله‌ی متافاز و پروفاز به‌راحتی قابل‌بررسی می‌باشند (۱). کاریوتیپ تستی برای تعیین اندازه، شکل و تعداد کروموزوم‌ها در یک سلول است. افزایش، کاهش یا اشکال غیرطبیعی قطعات کروموزومی می‌تواند باعث ایجاد مشکلاتی در رشد، تمایز و اعمال مختلف بدن یک فرد شود (۲). لوژن و همکاران در سال ۱۹۵۹ اولین اختلال کروموزومی را گزارش دادند (۳) و از آن زمان به بعد، در بررسی‌های ژنتیکی افراد معمولاً اولین گام در تشخیص درخواست یک بررسی کاریوتیپ است (۴). معمولاً افراد مبتلا به یک کاریوتیپ غیرطبیعی ویژه، قبل از اینکه شباهت به والدین خود داشته باشند، شباهت بیشتری به فردی با کاریوتایپ یکسان دارند. کروموزوم‌ها ساختارهایی هستند که ژن‌های سلول بر روی آن‌ها سوارند، هرگونه تغییر در ساختار این‌ها ممکن است باعث ایجاد ناهنجاری شود (۵). طبق پروتکل دلایل درخواست کاریوتیپ و مشاوره ژنتیک عبارت‌اند از: بارداری پیش از ۱۸ سال و بالای ۳۵ سال، خانواده‌هایی که مبتلا به یک ناهنجاری کروموزومی واضح در فرد یا بستگان درجه‌یک هستند (۶)، سقط مکرر، نازایی، مرده زایی، مرگ بدون دلیل نوزاد بعد از تولد، اختلال در روند بلوغ و ابهام تناسلی، ناتوانی و کم‌توانی‌های ذهنی و جسمی در خانواده و یا نزدیکان بدون دلیل و یا ناشناخته، نامنظمی عادت ماهیانه و یا آمنوره اولیه، نفس لوله عصبی، اختلال رشد (۷)، وجود مشکلاتی مانند کوتاهی یا بلندی قد (دست‌وپاهای بزرگ‌تر یا کوتاه‌تر از حد طبیعی)، افرادی که در خانواده‌شان فرزندان معلول بدون علت مشخص وجود دارد، افرادی

[1] دانشیار، گروه زیست شناسی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 1:20 +0330 on Sunday November 28th 2021

که خانواده و بستگان آن‌ها بیماری‌های ژنتیک ناشناخته دارند، زنان بارداری که بر اساس نتایج آزمایش‌های غربالگری احتمال فرزند ناهنجار دارند، زوجینی که قصد انجام IVF دارند، مرد یا زن اهداکننده اسپرم یا تخمک، شواهد وجود موزائیسم کروموزومی در یک فرد ، شناسایی افراد ناقل ژن بیماری‌هایی مانند هموفیلی و کم‌خونی داسی شکل، سندرم X شکننده، آتاکسی تلانزکتازی، سرطان‌های خون (لوسمی‌ها)، شواهد وجود حالات ناقلی اختلالات کروموزومی، ازدواج فامیلی، اختلالات عصبی-عضلانی، اختلالات رفتاری،، الیگواسپرمی یا آزواسپرمی، ظاهر غیر طبیعی اندام‌ها، موارد ژنتیکی سندرم تخمدان پلی کیستیک در خانم‌ها، موارد ژنتیکی نارسایی تخمدان، سندرم‌هایی نظیر (ترنر، کلاین فلتر، داون، پاتو، ادوارد...)، میکرودیلیشن/داپلیکیشن، شواهد وجود اختلالات کروموزومی در خویشاوندان که کاریوتیپ فرد مبتلا در دسترس نمی‌باشد و... می‌باشد (۱۰ – ۸). امروزه برای تشخیص اختلالات کروموزومی علاوه بر کاریوتیپ ساده تکنیک‌های دیگری از جمله، کاریوتیپ مولکولی یا Array CGH برای بررسی سندرم‌های ژنتیکی، عقب ماندگی‌های ذهنی، اختلالات کروموزومی ناشی از سرطان‌ها، لوسمی و تشخیص ریز حذف‌ها، ریز همتا سازی ها، آنیوپلوئیدی، جابجائی های نامتعادل و تغییرات شماره نسخه ساب تلومری و پیش سانترومری (۶ - ۹)، همچنین FISH برای تشخیص پیش از تولد نظیر تالاسمی، PKU، سیستیک فیبروزیس، دیستروفی عضلانی دوشنوبکر، هموفیلی، SMA و سایر بیماری‌های ژنتیکی بکار می‌رود (۱۰). ولی با توجه به بالا بودن قیمت تست‌های اخیر و عدم دسترسی در اکثر آزمایشگاهها مشاورین ژنتیک ترجیح می‌دهند اولین اقدام در خواستی یک کاریوتیپ ساده باشد. در تحقیق جاری شیوع اختلالات کروموزومی در ۲۰۰ فرد با اختلال ناباروری و یا سقط مکرر،۴۰ نفر مبتلا به سرطان‌های متعددو ۱۸۰ فرد با عقب‌ماندگی ذهنی و یا مشکوک به سندرم X شکننده بررسی شده است.

مواد و روش کار

نمونه‌ها: مطالعه حاضر از نوع توصیفی - مقطعی می‌باشد. پس از اخذ مجوزهای لازم از مراکز بهزیستی و علوم پزشکی شهرستان‌های مختلف و رضایت‌نامه‌ی کتبی از والدین افراد مبتلا به عقب‌ماندگی ذهنی و خود افراد با مشکلات ناباروری و مبتلا به سرطان، نمونه‌گیری به عمل آمد. نمونه که شامل ۵ سی‌سی خون بود از ۲۰۰ بیمار با سابقه سقط مکرر و ناباروری با میانگین سنیاز استان‌های غرب کشور شامل ۱۲۴ نفر زن و ۷۶ مرد،۴۰ فرد مبتلا به انواع سرطان‌ها با سن بین از استان کردستان، به همراه ۱۸۰ فرد مبتلا به عقب‌ماندگی ذهنی عمدتاً پسر، و ضریب هوشی ۵۰ تا ۷۰، از نقاط مختلف کشور، اخذ شدو سپس به روش سیتوژنتیک کاریوتیپ افراد تعیین شد.

مراحل تهیه کاریوتیپ:

ابتدا سرنگ‌های ۱۰ میلی لیتری با محلول هپارین شستشو داده شدند. سپس نمونه‌ها به تیوب‌های استریل منتقل شده و در دمای ۴°C تا زمان آزمایش (حداکثر ۷ ساعت) نگه داری شدند. در ادامه ابتدا نمونه‌ی خون که در لوله‌های مخصوص هپارینه هموژن شدند این کار باعث مخلوط شدن پلاسما با نمونه خون می‌شود. برای هر بیمار ۲ عدد لوله فالکون ۱۵ سی‌سی انتخاب شد. به یکی از لوله‌ها ۱ سی‌سی سرم ((new borne cell serum، ۴ سی‌سی hamf10 و ۰،۱ سی‌سیPHA (محرک کشت) اضافه شد. در لوله‌ی دیگر ۵ سی‌سی pbmax اضافه گردیدکه یک محیط کاملاً مغذی شامل محرک کشت هم می‌باشد. سپس در هر لوله ۵۰۰ لاندا نمونه خون ریخته شد (دلیل استفاده از ۲ لوله‌ی جداگانه این است که در صورت رشد نکردن یکی از لوله‌ها لوله‌ی دیگر استفاده شود). پس از انجام کشت لوله‌های حاوی نمونه در انکوباتور ۳۷ درجه به مدت ۷۲ ساعت نگه داری گردیدند. جهت هاروست نمونه‌ها پس از گذشت ۷۲ ساعت و رسیدن به مرحله‌ی هاروست ابتدا به هر لوله مقدار ۱۲۰ لاندا کلسمید اضافه گردیدوبه مدت ۱۲ دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه نگه داری شدند. پس از گذشت ۵ دقیقه از ۱۲ دقیقه هر دو لوله یکسان شدند (چون در این مرحله هر لوله رشد خود را کرده و به زمان هاروست رسیده در نتیجه برای داشتن رسوب کافی دو لوله یکی شد). پس از اتمام ۱۲ دقیقه لوله‌ها (که در این زمان یکی شده‌اند) با دور ۱۵۰۰ و زمان ۱۰ دقیقهسانتریفیوژشدند. پس از ۱۰ دقیقه لوله‌ها را از سانتریفیوژ در آورده و محلول رویی ریخته شد.. حال محلول هایپوتونیک (۰،۷۵ گرم پودر kcl در ۱۰۰ میلی لیتری pbs حل می‌شود) به مقدار ۱۴ سی‌سی به لوله‌ها اضافه گردید و به مدت ۲۵ دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه قرار گرفتند. پس از پایان ۲۵ دقیقه، ۱ سی‌سی محلول فیکس (جهت فیکس شدن سلول‌های متورم که در مرحله‌ی هایپوتونیک رخ داده) ریخته شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۵۰۰ سانتریفیوژ قرار گرفتند. پس از پایان ۱۰ دقیقه با پیپت شیشه ایی نمونه هاپیپت شدند. به‌طوری که ابتدا ۱۰ قطره فیکساتورآرام آرام به لوله‌ها اضافه شد. با اضافه کردن فیکساتور سلول‌های باد کرده‌ی فیکس شده به آرامی لیز شدندو متافاز ها از سلول‌ها خارج می‌شوند. پس از پایان پیپت کردن نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۵۰۰ سانتریفیوژ شدند پس از این مرحله به رسوب حاصل ۵ سی‌سی فیکساتوراضافه شد. پس ازاضافه شدند ۵ سی‌سی فیکساتور نمونه‌ها ۱۰ دقیقه با دور ۱۵۰۰ سانتریفیوژ گردیدند. پس از پایان سانتریفیوژ نمونه‌ها آماده لامگیری بودند.

مرحله یلامگیری و رنگ آمیزی G بندینگ:

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 1:20 +0330 on Sunday November 28th 2021

در این مرحله یک محیط مرطوب جهت باز شدن کامل متافازها لازم است. بدین منظور از دستگاه بخور استفاده می‌شود. ۳۰ دقیقه قبل از شروع کار دستگاه بخور روشن می‌گردد تا رطوبت محیط به حد مطلوب برسد. لام‌ها با گاز استریل تمیز شده سپس جلوی بخور گرفته شد. پس از مرطوب شدن لام‌ها از نمونه مریض ۲ تا ۳ قطره روی لام ریخته شد (به‌اندازه‌ایی که سطح لام را بپوشاند و قطره‌ها روی همدیگر نیفتند). پس از ریختن قطره‌ها روی آن‌ها ۲ قطره فیکساتور ریخته شد. فیکساتور سلول‌ها و متافازها را روی لام ثابت می‌کند. بعد از خشک شدن لام زیر میکروسکوپ دیده می‌شود. در این مرحله ابتدا ۰،۵ گرم از پودر تریپسین توسط ۵۰ سی‌سی PBS حل گردید که به‌عنوان استوک در نظر گرفته می‌شود، سپس ۱۰ سی‌سی از استوک توسط ۹۰ سی‌سی PBS به حجم رسانده و اسلایدها را که قبلاً در انکوباتور ۷۰ درجه بین ۵ تا ۷ ساعت قرار داده شده بودند درون این محلول به مدت ۳۰ ثانیه قرار گرفت. پس از ۳۰ ثانیه اسلایدها سریع درون PBSگذاشته شدند تا اثر خوردگی تریپسین از بین برود، بعد از آن اسلایدها از PBS خارج شدند. سپس به مدت ۳ دقیقه با رنگ گیمسا ۱۰درصد که با PBS رقیق شده رنگ گردیدند.

آنالیز کاریوتیپ:

به منظور بررسی کاریوتیپ در زیر میکروسکوپ ابتدا یک ست از کروموزوم‌ها شناسایی شدند. سپس کروموزوم‌های همولوگ شناسایی شده و جفت کروموزوم‌ها شناسایی گردیدند. در ادامه ناهنجاری‌های کروموزوم‌ها شناسایی شدند. به‌طور معمول با استفاده از میکروسکپ برای هر بیمار ۲۰ متافاز موردبررسی قرار گرفت و در صورت مشاهده موزائیسم تعداد ۵۰ متافاز بررسی شد و نتایج ثبت گردید. همچنین از عقب ماندگان ذهنی ۸۰ پسر که مشکوک به سندرم x شکننده بودند با روش مربوط به کاریوتیپسندرم x شکننده هم بررسی شدند ().

یافته‌ها

از ۱۸۰ نفر مبتلا به عقب‌ماندگی ذهنی (۶/۶درصد)۱۲ نفر ناقل یک اختلال کروموزومی (۸ نفر اختلال ساختاری و تعدادی و ۴ نفر سندرم x شکننده) و (۹۲/۴درصد)۱۷۲ نفر بقیه دارای کاریوتیپ سالم بودند. از ۸۰ مرد مشکوک به سندرم X شکننده تنها ۴ نفر آن‌ها شکنندگی کروموزوم X را در انتهای بازوی کوتاه داشتند. بعلاوه، هیچ‌کدام از ۸۰ نفری که با روش کاریوتیپ سندرم X، موردبررسی قرار گرفتند جزو ۸ نفر شناسایی‌شده با اختلال کروموزومی نبودند. همچنین از ۲۰۰ فرد مبتلا به اختلال ناباروری و سقط‌جنین ۱۳۸(۶۹درصد) نفر کاریوتیپ سالم و ۶۲ (۳۱درصد) نفر دارای یکی از نقایص کروموزومی بودند. در میان ۴۰ نفر مبتلا به سرطان تنها در ۲ مورد (۵،۰درصد) جابجایی کروموزومی مشاهده شد (جدول ۱). بعلاوه از کاریوتیپ این ۴۲۰، ۷۳ (۶۲ در ناباروری،۸ در عقب‌ماندگی ذهنی، ۲ در سرطان و ۱ شکنندگی X در ۴ مرد)) تغییر کروموزومی مشاهده شد. این تغییرات از نوع وارونگی (۷ مورد)، اضافه‌شدگی (۱۰ مورد)، حذف‌شدگی (۱۲) و جابجایی (۴۳) بود (جدول ۲). از نتایج دیگر این بود که کروموزوم شماره ۳ دارای بیشترین تغییرات و کروموزوم‌های ۱۶، ۱۷، ۱۸ و کروموزوم Y جنسی فاقد تغییر بودند.

جدول (۱): لیست اختلالات کروموزومی مشاهده‌شده به روش کاریوتیپ ساده در افراد موردبررسی با مشکل ژنتیکی ناباروری، سقط‌جنین، عقب‌ماندگی ذهنی و سرطان

مشکل ژنتیکی	تعداد افراد با کاریوتیپ سالم	تعداد افراد با کاریوتیپ غیرمعمول	تعداد کل	اختلال کروموزومی
ناباروری و سقط‌جنین	۱۳۸	۶۲	۲۰۰	46, xx, inv (3) (q21q26), 46, xx, inv (3) (q22q24), 46, xx, inv (10), (p11.2q21.2), 46,xx,inv (3;1)(p12p21), 46,xy, inv(9)(p11:q12), 46, xy, inv (9) (p11: q12), 46,xx, inv(9)(p11:q13),46, xy, ins (2) (p13q21q31), 46, xy, ins (13) (q14.2q21.1), 46, xy, ins (12), 46, xy, ins (7) (q21.1), 46xx, ins (6) (q16.1), 46, xy, ins (9) (q34.2),46, xx, ins (3) (4;10) (q13.1q21.3), 46, xx, ins (8) (q24.2), 46, xx, ins (9;3) (p12p14.1), 46, xx, ins (7) (q21.1), 46, XY, ins(11q), 46, xy, del(x)(p21p21), 46, xy, del (7) (q11.2p15.2), 45, xx.-22, 46, xy, del (3) (p25.2), 46, xy, del (5) (q13), 46, xx, del (2) (p21p21), 46, xx, del (3) (p13p31), 46, xx, del (1) (q12q25), 46, xx, del (15) (p11.2),

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 1:20 +0330 on Sunday November 28th 2021

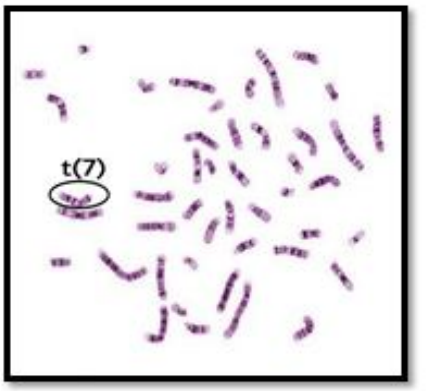
مشکل ژنتیکی	تعداد افراد با کاریوتیپ سالم	تعداد افراد با کاریوتیپ غیرمعمول	تعداد کل	اختلال کروموزومی
				46, xx, del (19) (q13.2), 46, xx, del (9) (q12), 46, xx, del (4) (p15.3), 46, xy, t (5,11), 46, xy, t (10,14), 46, xy, t (10,22), 46, xy, t (1,19),46, xy, t (11,4), 46, xy, t (2,5) (q21; q31), 46, xy, t (5;6) (q13q23; q15q23), 46, xx, t (5;14;9) (q13q23; q24q21; p12p23), 46, xy, t (8,12), 46, xx, t (9,2),46, xx, t(6,4), 46, xy, t (3,4), 46, xy, t (9,13),46, xy, t (3,12), 46, xx, t (2;8;7), 46, xx, t (9,13), 46, xx, t (12,14), 46, xx, t (9;22) (q34; q11,2), 46, xx, t (6;9) (q22.1q31), 46, xx, t (6,12), 46, 46, xx, t (2,9), 46, xx, t (5,12),46, xx, t (1;18) (q10; q10), 46, xx, t(1;20) (q10-21;q11-13), 46, xx, (t13:22) (q14: q10), 46, XX, t(1:6) (p21;q27)), 46, xy, dup (5), 46, xx, dup (1) (q22q25), 46, xx, dup (5) (q21q6), 46, xx, dup (15) (q12), 46, xx, dup (8) (q11.22q21.1), 46,xx,dup(2)(q14.1q21.2)
عقب‌ماندگی ذهنی	۱۶۸	۱۲	۱۸۰	47, XY, +21, inv(9) (p11;q13),46, XY, t (2; 7) (q33; q31.2), 44, XX, der (13;14) (q10; q10), 45, XY, der(13;14)(q10;q10), 45, XY, der(13q;14q), 46, XY,t(1;1), (p36;q21),46,XY,t(2;2), (p23;q35), 46,XY t(7;7), (p15;q34) and 4 men with fragile X
سرطان	۳۸	۲	۴۰	46, xx, inv (9) (p11: q13) 46,xx, inv(6)(p12q15)
کل	۲۶۶	۷۴	۴۲۰	

جدول (۲):. انواع اختلالات کروموزومی مشاهده‌شده به ترتیب نوع اختلال به روش کاریوتیپ ساده در افراد موردبررسی با مشکل ژنتیکی ناباروری، سقط‌جنین، عقب‌ماندگی ذهنی و سرطان

لیست اختلالات هر گروه از ناهنجاری‌های ساختاری کروموزوم‌ها	نوع اختلال ساختاری
46, xx, inv (3) (q21q26), 46, xx, inv (3) (q22q24), 46, xx, inv (10) (p11.2q21.2), 46,xx,inv (3;1)(p12p21), 46,xy, inv(9)(p11:q12), 46, xy, inv (9) (p11: q12), 46,xx, inv(9)(p11:q13),47, XY, +21, inv(9) (p11;q13),46, xx, inv (9) (p11: q13), 46,xx, inv(6)(p12q15)	وارونگی (Inversions)
46, xy, ins (2) (p13q21q31), 46, xy, ins (13) (q14.2q21.1), 46, xy, ins (12, 46, xy, ins (7) (q21.1), 46xx, ins (6) (q16.1), 46, xy, ins (9) (q34.2),46, xx, ins (3) (4;10) (q13.1q21.3), 46, xx, ins (8) (q24.2), 46, xx, ins (9;3) (p12p14.1), 46, xx, ins (7) (q21.1), 46, XY, ins(11q)	اضافه‌شدگی (Insertions)
46, xy, del(x)(p21p21), 46, xy, del (7) (q11.2p15.2), 45, xx.-22, 46, xy, del (3) (p25.2), 46, xy, del (5) (q13), 46, xx, del (2) (p21p21), 46, xx, del (3) (p13p31), 46, xx, del (1) (q12q25), 46, xx, del (15) (p11.2), 46, xx, del (19) (q13.2), 46, xx, del (9) (q12), 46, xx, del (4) (p15.3)	حذف‌شدگی(Deletions)

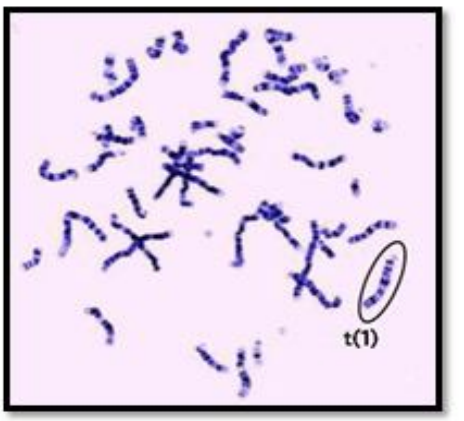
Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 1:20 +0330 on Sunday November 28th 2021

نوع اختلال ساختاری	لیست اختلالات هر گروه از ناهنجاری‌های ساختاری کروموزوم‌ها
جابجایی(Translocations)	46, xy, t (5,11), 46, xy, t (10,14), 46, xy, t (10,22), 46, xy, t (1,19), 46, xy, t (11,4), 46, xy, t (2,5) (q21; q31), 46, xy, t (5;6) (q13q23; q15q23), 46, xx, t (5;14;9) (q13q23; q24q21; p12p23), 46, xy, t (8,12), 46, xx, t (9,2),46, xx, t(6,4), 46, xy, t (3,4), 46, xy, t (9,13), 46, xy, t (3,12), 46, xx, t (2;8;7), 46, xx, t (9,13), 46, xx, t (12,14), 46, xx, t (9;22) (q34; q11,2), 46, xx, t (6;9) (q22.1q31), 46, xx, t (6,12), 46, 46, xx, t (2,9), 46, xx, t (5,12), 46, xx, t (1;18) (q10; q10), 46, xx, t(1;20) (q10-21;q11-13) 46, xx, (t13:22) (q14: q10), 46, XX, t(1:6) (p21;q27)),46, XY, t(1;1), (p36;q21), 46,XY, t(2;2), (p23;q35), 46,XY t(7;7), (p15;q34),), 46, XY, t (2; 7) (q33; q31.2), 44, XX, der (13;14) (q10; q10), 45, XY, der(13;14)(q10;q10), 45, XY, der(13q;14q),
دو برابر شدن(Duplications)	46, xy, dup (5), 46, xx, dup (1) (q22q25), 46, xx, dup (5) (q21q6), 46, xx, dup (15) (q12), 46, xx, dup (8) (q11.22q21.1), 46,xx,dup(2)(q14.1q21.2)



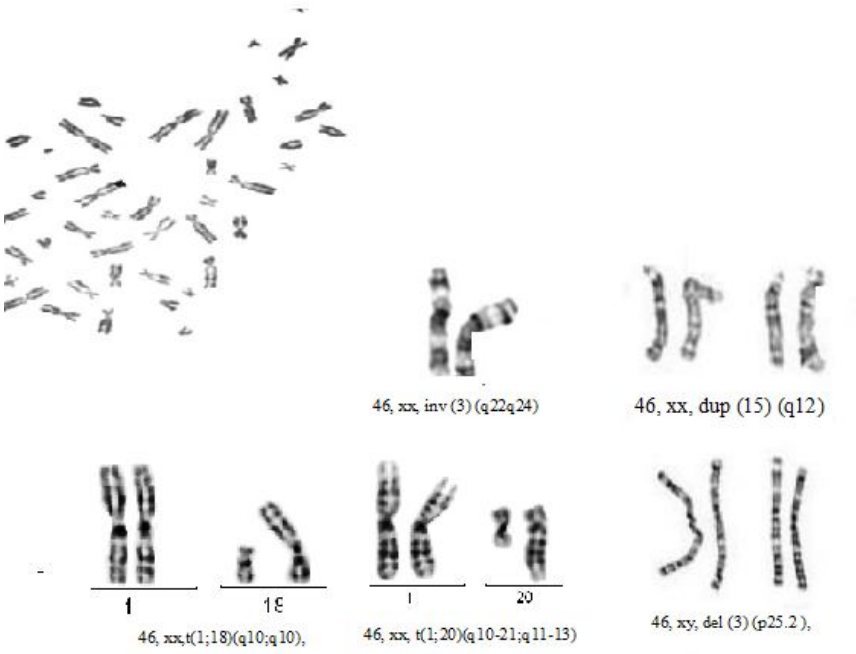
t (7; 7), (p15; q34)

t(2;2),(p23;q35)



t (1;1), (p36; q21)

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 1:20 +0330 on Sunday November 28th 2021



شکل (۱): کاریوتایپ‌های انواعی از آنومالی‌های شناسایی‌شده در بررسی جاری

بحث

شناسایی ناهنجاری‌های کروموزومی بخش ضروری از تشخیص، پیشگیری و در صورت امکان درمان اختلالات ژنتیکی است. به‌طورکلی تشخیص نوع اختلال ژنتیک حتی با مشاوره ژنتیک، رسم شجره‌نامه و در مواردی با بررسی فنوتیپ کاری مشکل می‌باشد. مهم‌تر از آن هزینه‌های بالایی آزمایشات ژنتیک است که با توجه به این‌که همیشه بیماری‌های ژنتیکی در طبقه ضعیف‌تر جامعه هستند، امکان بررسی‌های کامل را در بسیاری از خانواده‌ها مشکل می‌سازد. مشکل سومی که هست عدم دسترسی به انجام کامل این آزمایشات در کشور است که به‌خودی‌خود لزوم ارسال نمونه به خارج از کشور و به دنبال آن باز افزایش هزینه‌ها را برای خانواده‌ها به دنبال دارد. تحقیق حاضر جمع‌بندی از چند بررسی بوده و نتایج آن لزوم تأکید بر یک مشاوره ژنتیکی دقیق را برای انتخاب آزمایشات ژنتیک افراد بیمار و مشاوره جو می‌طلبد. بنا بر مطالعات انجام شده عوامل ژنتیکی تقریباً ۷۰درصد از علل بروز عقب‌ماندگی ذهنی را تشکیل می‌دهند (۱۱) که شامل ناهنجاری‌های کروموزومی و ناهنجاری‌های تک ژنی می‌شوند. از این میان، علت ۴درصد تا ۲۸درصد از عقب‌ماندگی ذهنی ناهنجاری‌های کروموزومی می‌باشد (۱۶). ۵۰درصد سقط‌های ۳ ماهه‌ی اول بارداری به علت نقص‌های کروموزومی است که بدن، این نوزادان را به‌طور طبیعی پس می‌زند (۱۵ – ۱۲).

بر اساس نتایج این تحقیق از ۱۸۰ نفر مبتلا به عقب‌ماندگی ذهنی (۶/۶درصد)۱۲ نفر ناقل یک اختلال کروموزومی (۸ نفر اختلال ساختاری و تعدادی و ۴ نفر سندرم x شکننده) و (۹۲/۴درصد)۱۷۲ نفر بقیه دارای کاریوتیپ سالم بودند. با مطالعه‌ی در هند بر روی ۱۷۶۰ فرد مبتلا به عقب‌ماندگی ذهنی و بررسی تمامی ناهنجاری‌های کروموزومی روی آن‌ها به این نتیجه رسیدند که ۳۷۷ مرد و ۱۷۸ زن مبتلا به ناهنجاری کروموزومی بودند (۱۷ - ۱۶). این تحقیق شامل نتایج کاریوتایپ مولکولی نیز می‌باشد و نتایج ما اگر تنها کاریوتایپ ساده مدنظر باشد نزدیک به نتایج این تحقیق در آسیا است. درهرحال در ارتباط با عقب‌ماندگی ذهنی، اتیسم و پیش فعالی نباید به یک کاریوتایپ ساده اکتفا کرد و کاریوتایپ مولکولی و در ادامه آزمایش اگزوم بایستی صورت گیرد. نکته دیگر آنکه مشاور ژنتیک بایستی در انتخاب نوع آزمایش علاوه بر سابقه خانوادگی به آزمایشات دوران بارداری و نتایج غربالگری اول و دوم و سایر آزمایشات توجه کامل داشته باشد. نکته مهم دیگر در نتایج این بررسی و مشاهده فقط ۸ مورد اختلال کروموزومی در افراد عقب‌مانده ذهنی موردبررسی، تأکیدی بر غیر بیماری‌زا بودن بخش عمده‌ای از هتروموفیسم‌های کروموزومی است که ممکن است در یک آمنیوسنتز در جنین شناسایی شود و ابهام را برای خانواده در ارتباط با سقط پیش بیاورد، به عبارتی به طاهر این نوع هتروموفیسم‌های کروموزومی منجر به عقب‌ماندگی نمی‌شوند.

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 1:20 +0330 on Sunday November 28th 2021

در ارتباط با سندرم X شکننده مطالعاتی که با روش‌های مولکولی انجام شده است فراوانی این اختلال در جوامع اروپایی، آمریکایی و استرالیایی را ۰/۶ در هزار تعیین کرده‌اند (۱۷). در مطالعه‌ای که توسط جاکوبس روی سه جامعه اصلی عقب‌مانده ذهنی (افرادی که به‌عنوان عقب‌مانده ذهنی در خانواده نگهداری می‌شوند، افراد عقب‌مانده ذهنی که در مراکز خاص نگهداری می‌شوند و افرادی که در مدارس استثنایی در حال تحصیل هستند) انجام گرفت و میزان فراوانی در جوامع ذکرشده (تمامی گروه‌های عقب‌مانده ذهنی) را ۱/۹ درصد در مردان و ۰/۳ درصد در زنان تعیین نمودند (۱۸). همچنین در مطالعه‌ای اسدی کرم و همکاران ۷/۷ درصد افراد موردمطالعه مبتلا بودند (۱۹). در بررسی جاری که با یک روش سیتوژنتیک صورت گرفت ۶/۶ درصد مبتلا بودند و مشابه نتایجی است که قبلاً با روش پرهزینه مولکولی انجام شده است. لذا به نظر می‌رسد در بررسی یک پسر مشکوک به سندرم X شکننده بهترین انتخاب برای خانواده یک بررسی کاریوتیپ کم‌هزینه به‌جای یک بررسی مولکولی پرهزینه است که ممکن است به نتیجه هم نرسد.

در افراد مبتلا به مشکلات باروری ترانس لوکیشن یا جابجایی بازوهای کروموزومی با فراوانی ۴۰/۳۲درصد فراوان‌ترین تغییر شناسایی‌شده در جمعیت موردمطالعه بود. پس‌ازآن اضافه‌شدگی (۲۲،۶درصد)، حذف‌شدگی (۱۷/۷۴درصد)، برعکس شدگی (۹،۷درصد) و دو برابر شدگی (۹،۷درصد) به ترتیب از بیشترین فراوانی برخوردار بودند. همچنین از ۶۲ نفر با مشکلات باروری ۳۵ نفر متعلق به افرادی با سقط مکرر و ۲۷ نفر از گروه ناباروران بودند. تعداد واریانت‌ها با کیس‌ها برابر بود و هیچ واریانتی هم‌زمان در دو فرد شناسایی نشد. سقط مکرر (تعداد دو یا چند بارداری ناموفق) ۲ تا ۵ درصد از زوجین را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۰). بیش از ۵۰ درصد از زوجینی که سابقه سقط مکرر دارند به‌عنوان موارد با علت نامشخص یا ایدیوپاتیک معرفی می‌شوند (۲۴- ۲۲). مطالعات نشان می‌دهند که آنالیز کروموزومی می‌تواند علت ۸۰ درصد از موارد سقط‌های مکرر با علت نامشخص در زنان بالای ۳۵ سال را مشخص نماید (۲۵-۲۸). علت ۵۰ درصد از بارداری‌های زود خاتمه یافته، شایع‌ترین دلیل سقط‌جنین غیرعمدی در طول سه‌ماهه اول بارداری، اختلالات کروموزومی است (۲۹). بیش از ۸۰ درصد سقط‌ها در ۱۲ هفته اول بارداری رخ می‌دهند و اختلالات کروموزومی حداقل مسئول ۵۰ درصد آن‌ها هستند .بعد از سه‌ماهه اول، میزان سقط و میزان بروز اختلالات کروموزومی کاسته می‌شود (۲۰). از سال ۱۹۶۲ که اسمیت نشان داد وجود ناهنجاری‌های سیتوژنتیکی والدین با سقط‌های مکرر در خانواده همراه است، مطالعات متعددی در این زمینه در مناطق مختلف جهان صورت پذیرفته است (۲۱). لذا نتایج این تحقیق مؤید این است که تست کاریوتیپ ساده یک تست مفید برای بررسی اولیه اختلالات ناباروری است.

در ارتباط با سرطان از ۴۰ نفر فرد موردبررسی تنها دو نفر ناقل یک تغییر بودند. این احتمال هم مطرح است که این تغییرات هم عامل بیماری نبوده باشند. بهر حال به نظر می‌آید بهترین انتخاب برای فرد مشاوره جو که احتمال پرخطر بودن هم برای او وجود دارد در مرحله اول یک بررسی پانل سرطانی و در مرحله دوم انجام یک کاریوتیپ مولکولی است.

نتیجه‌گیری: ۷۳ تغییر کروموزومی (۶۲ در ناباروری، ۸ در عقب‌ماندگی ذهنی، ۲ در سرطان و ۱ اختلال ساختاری شکنندگی X) در کاریوتیپ ۴۲۰ نفر مشاهده شد. این نتیجه لزوم انجام کاریوتایپ را با بیشترین اهمیت در مشکلات ناباروری و سقط‌جنین نشان می‌دهد در ارتباط با عقب‌ماندگی ذهنی و سرطان لزوم تحقیقات بیشتر است.

تشکر و قدردانی

این تحقیق برگرفته از ۸ پایان‌نامه‌ی دانشجویان کارشناسی ارشد این‌جانب در دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج است. این‌جانب از خانم‌ها پگاه وثوق، آیرین حیدری، آیرین پژگل، لیدا کریمی بهبهانی و آقایان پیمان هادی، سعید پرشنگ، عرفان نژادی و افشین یارمحمدی تشکر می‌کنم. همچنین از کلیه افرادی که در این بررسی شرکت داشتند، اداره بهزیستی و پزشکی قانونی کردستان، کرمانشاه، آذربایجان شرقی و غربی کمال قدردانی و تشکر را دارم.

References:

1. Khandekar S, Dive A, Munde P. Chromosomal abnormalities -a review. Central India Journal of Dental Sciences 2013; 4(1): 35-40.
2. van Karnebeek CD, Jansweijer MC, Leenders AG, Offringa M, Hennekam RC. Diagnostic investigations in individuals with mental retardation: a systematic literature review of their usefulness. Eur J Hum Genet 2005; 13(1): 6-25.
3. Nasiri F, Mahjoubi F, Manouchehry F, Razazian F, Mortezapour F, Rahnama M. Cytogenetic findings in mentally retarded Iranian patients. Balkan J Med Genet 2012; 15(2): 29-34.

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 1:20 +0330 on Sunday November 28th 2021

4. Khaniani MS, Kalitsis P, Burgess T, Slater HR. An improved diagnostic PCR assay for identification of cryptic heterozygosity for CGG triplet repeat alleles in the fragile X gene (FMR1). Mol Cytogenet 2008; 1: 5.

5. Celep F, Sonmez FM, Karaguzel A. Chromosomal abnormalities in 457 Turkish patients with MCA/MR. Turk J Pediatr 2006; 48(2): 130-4.

6. Dave U, Shetty D. Chromosomal abnormalities in mental retardation: Indian experience. Int J Hum Gene 2010; 10(1-3): 21-32.

Ghasemi N, Kalantar SM, Aflatoonian A, Tayebi N. Subfertile couples with inv (9) (p11q13): Report of two cases. Middle East Fert Soc J 2007; 12(1): 63-5.

7. Dana M, Stoian V. Association of pericentric inversion of chromosome 9 and infertility in Romanian population. Maedica (Buchar) 2012; 7(1): 25-9.

8. Kriek M, White SJ, Bouma MC, Dauwerse HG, Hansson KB, Nijhuis JV, et al. Genomic imbalances in mental retardation. J Med Genet 2004; 41(4): 249-55.

9. Ghazaey S, Mirzaei F, Ahadian M, Keifi F, Semiramis T, Abbaszadegan MR. Pattern of chromosomal aberrations in patients from north East Iran. Cell J 2013; 15(3): 258-65.

10. Balkan M, Akbas H, Isi H, Oral D, Turkyilmaz A, Kalkanli S, et al. Cytogenetic analysis of 4216 patients referred for suspected chromosomal abnormalities in Southeast Turkey. Genet Mol Res 2010; 9(2): 1094-103.

11. Carpenter NJ, Leichtman LG, say B. Fragile X-linked mental retardation. A survey of 65 patients with mental retardation of anknown origin.AM J Dis Child 1982; 136(5): 392-8.

12. Proops R, Mayser M, Jacobs PA. A study of mental retardation in children in the Island of Hawaii.Clin Genet 1983; 23(2): 81-96.

13. Jamieson CR, Govaerts C, Abramowicz MJ. Primary autosomal recessive microcephaly: homozygosity mapping of MCPH4 to chromosome 15. (Letter) Am J Hum Genet 1999; 65(5): 1465-9.

14. Moynihan L, Jackson AP, Roberts E, Karbani G, Lewis I, Corry P, et al. A third novel locus for primary autosomal recessive microcephaly maps to chromosome 9q34. Am J Hum Genet 2000; 66(2): 724-7.

15. Trimborn M, Schindler D, Neitzel H, Hirano T. Misregulated chromosome condensation in MCPH1 primary microcephaly is mediated by condensin II. Cell Cycle 2006;5(3):322–6.

16. Butler Mg, Hamill T. Blood speciments From pationts referred for cytogenetic analysis: Vanderbelt Univercity Experince from 1985 to 1992. South Med J 1995, 88(3): 309-14.

17.. Anwar Igbal M, Nadia S, Michael N. Cytogenetic diagnosis of fragile X syndrome. Anals Saudi Med 2000; 20(3-4): 214-7.

18. Jacobs PA, Mayer M, Abruzzo MA. Studies of the fragile (X) syndrome in population of mentally retarded individuals in Hawaii. Am J Med Genet 1986; 23(1-2): 567-72.

19. Mc Gavran L, Hagerman R, Berry R. Prevalance of chromosome abnormalities in 1983-91 (abstract). International Fragile X conference proceedings. Dillon Colorado. Spectra Publishers 1992;375.

20. Lledó B, Ortiz JA, Morales R. The paternal effect of chromosome translocation carriers observed from meiotic segregation in embryos. Hum Report 2010;25(7):1843-8.

21. Feichtinger, M. Increasing live birth rate by preimplantation genetic screening of pooled polar bodies using array comparative genomic hybridization. PloS one 2015. 10(5): e0128317.

22. Handyside, A. Karyomapping: a universal method for genome crossovers between parental

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 1:20 +0330 on Sunday November 28th 2021

haplotypes wide analysis of genetic disease based on mapping. J Med Genet 2010. 47(10): 651-8.

23. Lebedev IN, Ostroverkhova NV. Molecular cytogenetic characteristics of chromosome imbalance in cells of spontaneous human abortion fetuses with low proliferative activity in vitro. Genetika 2003 39(8); 1111-22.
24. Ferro, V Serra, Improved accuracy of hysteroembryoscopic biopsies for karyotyping early missed abortions. Fertil Stril 2003; 80(5): 1260-4.
25. WA Hogge, AL Byrnes, MC Lanasa,, U Surti, The clinical use of karyotyping spontaneous abortions. Am J Obstet Gynecol 2003;189(2): 397-400.
26. Rozana Oliveira Gonçalves1, Wendell Vilas Boas Santos2, et al, Chromosomal abnormalities in couples with recurrent first trimester abortions, Rev Bras Ginecol Obstet 2014; 36(3):113-7.
27. Saeedeh Ghazaey, Fatemeh Keify. Chromosomal Analysis of Couples with Repeated Spontaneous Abortions in Northeastern Iran. Royan Institute International Journal of Fertility and Sterility 2015, 9(1). 47-54.
28. Dubey S, Chowdhury MR, Prahlad B, Kumar V, Mathur R, Hamilton S, et al. Cytogenetic causes for recurrent spontaneous abortions–an experience of 742 couples (1484 cases). Medknow Publications on behalf of Indian Society of Human Genetics 2005; 11 (2).
29. Rajasekhar M, Gopinath PM, Sreelakshmi K, Satyamoorthy K. A Cytogenetic Study of Couples with Miscarriages: An Experience from Manipal Referral Centre. Int J Hum Genet 2013, 13(2): 93-97

Original Article

THE IMPORTANCE OF KARYOTYPE TEST IN DIAGNOSING GENETIC DISEASES: A CROSS-SECTIONAL STUDY

Fatemeh Keshavarzi[1*]

Received: 04 Jan, 2019; Accepted: 08 Mar, 2019

Abstract

Background & Aims: The study of karyotype in several cases is the first step in the diagnosis of genetic disorders. The purpose of this study was to investigate the karyotype of a number of individuals with a range of possible genetic disorders.

Materials & Methods: This researchis a descriptive cross-sectional study. Sampling was done after obtaining necessary permissions and written consent from the parents of mentally retarded individuals and individuals with infertility and cancer problems. Blood samples were taken from 200 individuals with a history of recurrent abortions and infertility, including 124 women and 76 men, 40 patients with different types of cancers, and 180 mentally retarded subjects, and then they were determined by cytogenetic karyotype.

Results: Out of 180 mentally retarded subjects, 12 (6.6%) had a chromosomal abnormality (8 structural chromosomal abnormalities and four men with fragile X syndrome) and 172(92.4%) subjects had normal karyotypes. Also, of 200 subjects with infertility and abortion, 138 (69%) had healthy karyotype and 62 (31%) had one chromosomal defect. Among 40 patients with cancer, only 2 (0.8%) chromosomal changes were observed.

Conclusion: Seventy-three chromosomal changes (62 in infertility, 8 in mental retardation, 2 in cancer and 1 in structural disorder of fragility X) were shown in Karyotype of 420 cases. The findings imply the necessity of performing karyotype in infertility and abortion problems. Further research is needed on mental retardation and cancer.

Keywords: Abortion, Infertility, karyotype, Cancer, Mental Retardation

Address: Fatemeh Keshavarzi, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran, Pasdaran Ave.
Tel: +989183704918
E-mail: fkeshavarzi@iausdj.ac.ir

SOURCE: URMIA MED J 2019: 30(2): 139 ISSN: 1027-3727

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 1:20 +0330 on Sunday November 28th 2021

[1] *Department of Biology, Sanandaj Branch, Islamic Azad university, Sanandaj, Iran*