Archive of SID

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
سال سی و پنجم (۱۳۸۰) ،شماره پنجاه ، صفحه ۳۵

مطالعه ناهنجاریهای کروموزومی و گروههای خونی ۵۰ کودک مبتلا به لوسمی مراجعه کننده به بیمارستان کودکان تبریز(۷۷-۷۶)

دکتر محمد علی حسین پورفیضی[۱] دکتر عباسعلی حسین پورفیضی[۲] مهندس مریم شجاعی[۳]
مهندس پروین آذرفام[۴]

خلاصه

زمینه و اهداف: در این پژوهش رابطه بین ناهنجاریهای کروموزومی و ابتلای به سرطان در نمونه های خون محیطی و مغز استخوان ۵۰ کودک (۳۳مذکر و ۱۷ مونث) زیر۱۲ سال با متوسط سنی ٦ سال مراجعه کننده به بخش خون بیمارستان کودکان تبریز از مهرماه سال ۱۳۷٦ لغایت شهریور ماه سال ۷۷ ۱۳ مورد بررسی قرار گرفته است .

روش بررسی: نمو نه ها به طور تجربی از خون محیطی و مغز استخو ان تهیه و به روش میکرو کشت کروموزومی داده شده و سپس گسترش کروموزمی به روش گیمسای معمولی ونواری G رنگ آمیزی شده و مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج : نتایج به دست آمده نشان می دهند که بیشترین تعداد مراجعین مربوط به مبتلایان ALL (۱٤مذکر و ۷مونث) بودند. همچنین بیشترین میزان ابتلا در میان دارندگان گروه خونی +A(۲٦٪) (۹ مذکر ٤ مؤنث)مشاهده گردید.

بحث: نتایج به دست آمده از مطالعه گسترشهای کروموزومی نشان داد که تعداد ۲٤ نمونه (۱۸ مذکرو٦ مونث) دارای گسترشهای کروموزومی بودند که بیشترین نوع ناهنجاری از نوع قطعه استریک(۸مورد)و ترانسلوکاسیون(٦مورد)می باشد. که اختلاف معنی داری را ۰نسبت به گروه کنترل نشان می دهد($P< ۰/۰۵$)

کلمات کلیدی: ناهنجاریهای کروموزومی ـ لوسمی ـ گروههای خونی

مقدمه

کلمه ژنتیک اولین بار توسط ویلیام بیتسن در سال ۱۹۰۷ به کاربرده شد. او علم ژنتیک را علم وراثت معرفی کرد(۱).

گریگور مندل اساس توارث راتوسعه داد (۲) و درسال۱۹۵۳ واتسون و کریک ساختمان مولکولیDNA را شرح دادند (۳) .در اواخر ۱۹۵۰ تکنیکهای بررسی دقیقتر کروموزومهای انسان توسعه یافت و محققین در مورد نقش کروموزومها درنمو جنسی و ناهنجاریهای کروموزومی که باعث ایجاد مشکلات ذهنی و رشد غیرطبیعی اندامها می شوند، شروع به تحقیق کردند(۱).امروزه سرطان یکی از شایعترین و طاقت فرسا ترین مسایل طب بالینی است که درسه شکل اصلی وجود دارد :۱ـسارکوم که در ان تومور از بافت مزانشیال منشا می گیرد. ۲ـ کارسنیوم که از بافت اپتیلیال منشا می گیرد. ۳ـ بد خیمیهای سیستم خونساز و لنفوییدی(٤).

۱- استاد رادیوبیولوژی – دانشکده علوم طبیعی دانشگاه تبریز – نویسنده رابط
۲- استادیار – بخش خون – بیمارستان کودکان تبریز
۳- مربی- دانشکده علوم طبیعی – دانشگاه تبریز
٤- مربی دانشکده علوم طبیعی – دانشگاه تبریز

www.SID.ir

Archive of SID

روند تولید غیر قابل کنترل گلبولهای سفید را جهشهای سرطانی یک سلول میلوژن یا لنفوژن موجب می شوند. لوسمیها گروه چندگانه ای از نئوپلاسمها هستند که از تغییر شکل بدخیم سلولهای خونساز به وجود می آیند . لوسمیها شامل :لوسمی لنفو پلاستیک حاد(All) لوسمی میلوژنی حاد (Aml) لوسمی لنفوستیک مزمن (Cll) و لوسمیهای مودار (HairyCell) است. از بیماریهای میلوپرولیفراتیون وپلاسمهای سلول بنیادی خونساز فرم لوسمی میلوژنی مزمن (CML)نیز وجود دارد(۵).

کروموزوم فیلادلفیا ناشی از ترانسلوکاسیون کروموزومهای ۹و۱۲ به صورت t (9,22) (q34.1,q11.2) است. مهمترین علامت بیماران CMLبوده که در بیش از ۹۰٪ آنها دیده می شود. در۵ تا ۱-۰ درصد بیماران مبتلا به CML ، کروموزوم فیلادلفیا از یک جابجایی ساده یا ترانسلوکاسیون پیچیده مشتق می شود(٦).

در حالت کمپلکس آن گزارش می شود که انکوژن ABL از کروموزوم شماره ۹ بر روی کروموزوم شماره ۲۲ در کنار ژن BCR جابجا می شود که باعث ایجاد یک ژن با ساختار جدیدBCR/ABL برروی کروموزوم شماره۲۲ می شود(۷).این ژن جدید به صورت یک rna بزرگ کایمرایی نسخه برداری شده و این rna به فرمmRNA با اندازه ۸/۵ کیلو باز با دو شکل b3a2 و b2a2در می آید(۸). این mRNA به صورت یک پروتئین با اندازه ۲۱۰ کیلودالتون (ترجمه شده) می باشد که نقش اصلی را در ایجاد برخی علایم در بیماران مبتلا به CML ایفا می کند(۹).

به نظر می رسد ۱۵ تا ۲۰ مبتلایان All نیز دارای کروموزوم فیلادلفیا باشند و نسبت آ" در بزرگسالان به کودکان ۳ به ۱ می باشد(۱۰).

در ph مثبت ترانسلوکاسیون کروموزومی باعث ایجاد دو شکل از ژنهای جدید BCR-ABL می شود که به نقطه شکستگی درژن BCRبستگی دارد(۱۱).

در بسیاری از بیماران نقطه شکستگی در محل غیر اصلی بوده که یک ژن کایمرایی و به دنبال آن mRNA با اندازه ۷ کیلوباز و پروتئینی با اندازه ۱۹۰ کیلو دالتون را ایجاد می کند.مابقی ژنBCR-ABL مشابه با آنچه که در CML گفته شد ، نشان می دهد به نظر می رسد هر دو پروتئین ذکر شده نقش اصلی را در ترانسفورماسیون بدخیم سلولهای خونی ایفا می نماید(۱۱).

روش کار

در این پژوهش به طور تجربی از تعداد ۵۰ کودک زیر ۱۲ سال مبتلا به لوسمی مراجعه کننده به بخش خون بیمارستان کودکان تبریز (۷۷-۷٦) نمونه های خون محیطی و مغز استخوان تهیه وپس از کشت به روش معمولی (۱۲) ناهنجاریهای کروموزومی گسترشهای به دست آمده موردبررسی قرارگرفت،

نمونه گیری

خونگیری ازسیاهرگ توسط سرنگ حاوی هپارین(ضد انعقاد) ازسیاهرگ جلدی آرنج ودربرخی افراد چاق (وافرادی که به دلیل شیمی درمانی دچارترومبوز سیاهرگی شده اند)و خونگیری از سیاهرگ روی دست انجام گرفت.

آسپیراسیون مغز استخوان: نمونه از استخوان ایلیاک (خاصره)به دست آمد ، ابتدا پوست مطابق هر جراحی دیگرتمیز گردید. سپس ناحیه کوچکی ازپوست وزیرپوست تااستخوان با استفاده از گزیلوکائین بی حس شد؛ سوزن مغز استخوان همراه استیک خارج با اتصال سرنگ به سوزن مغز استخوان مقداری مغز استخوان و خون همراه ان آسپیره گردید (۱۳).

تهیه محیط کشت سلولی: به ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت RPMI1640 ۲۰میلی لیتر جنین گوساله (Fcs)به عنوان منبع غذایی و۲ میلی لیتر فیتو هما گلوتینین(PHA) جهت تحریک تقسیم سلولی اضافه شد .محیط کشتهای آماده RPMI 1640خریداری شده ازشرکت بهار، خود محتوی مقادیری ازآنتی بیوتیکهای پنی سیلین واسترپتومایسین بوده که جهت جلوگیری از رشد میکروبها به آن اضافه شد ه بود.

پس ازاضافه شدن ترکیبات ذکر شده محیط با بیکربنات سدیم (NaHCo3)در حدود ۷/٤ تعدیل گردید. در آخر محیط کشت در شیشه های استریل کوچک (۸ میلی لیتر هرکدام) و در دمای زیر صفر نگهداری شدند. همچنین جهت تهیه گسترشهای کروموزومی از مغز استخوان نمونههای اسپیره شده مغز استخوان از افراد مراجعه کننده نیز به محیطهای کشت بدون سرم جنین گاوی و فیتوهم آگلوتینین منتقل گردیده و پس ازانتقال به آزمایشگاه عمل برداشت را انجام داده ولی در مورد نمونه های خونی ؛نمونه به داخل محیط کشت حاوی سرم جنین گاوی و فیتو هم اگلوتینین منتقل و پس از تلقیح محیطهای کشت به مدت سه روز در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شدند؛ در پایان۷۰ ساعت کشت ۲۰۰ میکرو لیتر از محلول ۱۰ ٪ کلشیسین جهت متوقف کردن تقسیم میتوزی در مرحله متافاز اضافه به مدت ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفتند.جهت رنگ آمیزی لامها از دو روش: الف: رنگ آمیزی معمولی گیمسا (غلظت ۱۰٪)و ب: رنگ آمیزی نواری G (۱۲) استفاده گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج

در این پژوهش از تعداد ۵۰ کودک زیر ۱۲ سال مبتلا به سرطان به طور تجربی نمونه خون محیطی و مغز استخوان تهیه گردیده پس از کشت به روش متداول ؛گسترشهای کروموزومی بدست آمده مورد بررسی قرار گرفتند.

از تعداد کل ۵۰ مراجعه کننده ؛ ۳۲نفر(٦٤ درصد)مذکر و۱۸ نفر (٤٦ درصد) مونث بودند و متوسط سن کودکان تحت مطالعه ٦ سال بود.فراوانی سن مراجعه کنندگان در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. از تعداد کل افراد تحت مطالعه ؛ از دو نفر به دلیل نامساعد بودن وضع عمومی آنها فقط خون محیطی ؛از ۱۳ نفر نمونه های خون محیطی و مغز استخوان و از ۳۵ نفر نمونه های مغز استخوان تهیه گردید که از این تعداد نمونه ۱۱ مورد روی درمان (درحین درمان) تهیه شدند.

از تعداد کل افراد تحت مطالعه؛ ۱۳ نفر (۲۵در صد)دارای گروه خونی + A ؛ ۹نفر (۱۷/۵ درصد) دارای گروه خونی + O ؛ ٦ نفر(۱۱/۷درصد) دارای گروه خونی +B ؛ ٤ نفر(۷/۸درصد)دارای گروه خونی + AB ؛۲نفر دارای گروه خونی -Aو یک نفر(۲ درصد) دارای گروه خونی -B بودند و همچنین ۳۱ درصد بیماران که به طور سرپایی بوده ؛ اطلاعاتی در مورد گروه خونی آنها بدست نیامد.

از تعداد کل افراد تحت مطالعه ؛ ۲۷ نفربه لوسمی ؛ ۷ نفر به تومورهای توده ای و ٤ نفر به بیماریهای گروه کنترل تعلق دارند.۱۲ نفربه طور سرپایی مراجعه و قبل از تشخیص مرخص شده بودند. لیست مشخصات کودکان مراجعه کننده در جدول شماره ۲ آورده شده است.

تقریباً هیچ یک از افراد تحت مطالعه سابقه ابتلا به بیماریهای ذکر شده در خانواده نداشتندو تقریباً تمامی افراد تحت مطالعه تحت شیمی درمانی قرار گرفتند. عدهای از آنها فراورده های خونی ؛ پلاکت ؛ پلاسما ؛ گلبول متراکم و یا خون کامل دریافت کردند.

از تعداد کل افراد تحت مطالعه ؛ در ۲ نفر درمان منجر به بهبودی و در ۳۹ نفر حالت پایداری بیماری ایجاد شد. ۹ نفر از بیماران تحت مطالعه فوت شدند.

مطالعه لامهای به دست آمده از کشت کروموزومی نمونه های مغز استخوان و یا خون محیطی بیماران مراجعه کننده نشان داد که از ۵۰ نمونه تحت مطالعه؛ ۲٤ مورد دارای گسترش کروموزومی قابل مطالعه و ۲٦ مورد فاقد گسترش مناسب بودند و از گسترشهای قابل مطالعه ؛ ٦ نمونه از بیماران مبتلا به ALL ؛ سه نمونه مربوط به بیماران AML و ٤ نمونه به مبتلایان CML مربوط می شد. ۲٦ نمونه فاقد گسترش مناسب جهت مطالعه بودند که بیشترین مقدار مربوط به مبتلایان ALL نوع L1 مربوط می شد. جدول فراوانی انواع ناهنجاریهای کروموزومی در جدول شماره ۳ آورده شده است. همچنین محاسبات انجام یافته نشان دادند که اختلات کروموزومی مشاهده شده در آنالیزکروموزومی بیماران به انواع سرطانها نسبت به کنترل، افزایش معنی داری نشان می دهد($P< ۰/۰۵$).

جدول ۱- جدول فراوانی سنی کودکان مراجعه کننده به بخش خون بیمارستان کودکان تبریز
(مهرماه ۷٦ لغایت شهریور۱۳۷۷)

گروه سنی	مذکر	مونث	کل
زیر یکسال	۲	۲	٤
۱-۳	٤	۱	۵
۳-٦	۹	۱	۱۰
٦-۹	٦	٤	۱۰
۹-۱۲	۱۳	۸	۲۱
بالای ۱۲سال	-	۱	۱
جمع	۳۳	۱۷	۵۰

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- لیست مشخصات کودکان مراجعه کننده به بخش خون بیمارستان کودکان تبریز
(مهرماه ۷٦ لغایت شهریور۱۳۷۷)

نوع بیماری	مذکر	مونث	کل
لوسمی لنفوبلاستیک(ALL)	۱٤	۷	۲۱
لوسمی میلوبلاستیک(AML)	۳	–	۳
لوسمی میلوبلاستیک مزمن (CML)	–	۲	۲
لنفوم بورکیت	۳	۱	٤
آناپلاستیک لارج سل(ALCL)	۱	۱	۲
نوروبلاستوما(NRO)	–	۲	۲
آنمی مگالوبلاستیک	۱	۱	۲
ITP	۱	۱	۲
لیشمانیازیس	۱	–	۱
بیماران سرپایی*	۷	٤	۱۱
جمع	۳۱	۱۹	۵۰

*بیماران سرپایی بیمارانی هستند که نوع بیماری آنها مشخص نگردید.

۳- جدول نوع ناهنجاری کروموزومی کودکان مراجعه کننده به بخش خون بیمارستان کودکان تبریز
(مهر۷٦لغایت شهریور۱۳۷۷)

نوع ناهنجاری کروموزومی	مذکر	مونث	کل
سالم	۷	۳	۱۰
تریزومی	۱	–	۱
مونوزومی	۲	–	۲
شکاف کروموزومی	۳	–	۳
دی سانتریک	۳	۱	٤
فیلادلفیا	۱	۱	۲
ترانسلوکاسیون	۵	۱	٦
اختلال تعدادی	٤	۱	۵
آندرودپلیکاسیون	۳	۱	٤
تریپلوئیدی	۱	–	۱
پلی پلوئیدی	–	۱	۱
قطعه آسنتریک	٤	٤	۸
فاقد گسترش	۱۳	۱۰	۲۳
جمع	٤۷	۲۳	۷۰

www.SID.ir

Archive of SID

نمودار ۱- نمودار فراوانی سنی کودکان مراجعه کننده به بخش خون بیمارستان کودکان تبریز
(مهرماه ۷٦ لغایت شهریور۱۳۷۷)

بحث

یافتن پاسخ به این سوٴال که آیا رابطه ای بین انواع سرطانها و ناهنجاریهای کروموزومی وجود دارد یا نه؟ از دیر باز نظر محققین بوده وآنها در صدد یافتن رابطه ای بین انواع سرطانها و انواع ناهنجاریهای کروموزومی می باشند. در این پژوهش کروموزومهای مغز استخوان و یا خون محیطی به طور تجربی از بیماران مراجعه کننده به بخش خون بیمارستان کودکان تبریز از مهر ماه سال ۷٦ لغایت شهریور ماه ۱۳۷۷ تهیه و پس از آماده سازی لامها ؛ گسترشهای کروموزومی بررسی شدند.

بررسی نتایج به دست آمده نشان می دهند که از تعداد ۵۰ کودک تحت مطالعه ۳۳ مذکر و ۱۷ مونث می باشند که این میزان با آمار به دست آمده از مطالعات انجام یافته بر روی میزان ابتلای به سرطان خون و لنف در استان آذربایجان شرقی مطابقت دارد(۱٤). این نسبت در میان کودکان نیز با امار کل در استان مطابقت دارد.

www.SID.ir

Archive of SID

برخلاف انتظار که حداکثر میزان شیوع بیماری ALL در سن ٤ سالگی گزارش شده(۱۳)؛ در مطالعه حاضر حداکثر میزان شیوع مربوط به گروه سنی ۱۰و۱۱ سال به دست آمد. به نظر می رسد دریافت دارو موجب ایجاد حالت پایدار(remission) در بیماران شده و عود مجدد بیماری موجب افزایش تعداد بیماران در سن بالاتر گشته است. همچنین همانطوری که انتظار می رفت میزان شیوع انواع بیماریها در مطالعه حاضر با مطالعه انجام یافته روی ٤۰۰ بیمار بالای ۱۲ سال مراجعه کننده به بخش خون بیمارستان شهید قاضی طباطبائی تبریز(۷٦-۱۳۷۵)(۱٤) تفاوت دارند.

نتایج به دست آمده نشان می دهند که با افزایش سن تعداد مبتلایان به انواع لوسمیها و نیز تومورهای توده ای افزایش می یابند، در حالی که در گروه کنترل با افزایش سن کاهش را داریم. به نظر می رسد در بیماران گروه کنترل با افزایش سن مقاومت بدن بیشتر شده میزان ابتلا به بیماریهای گروه کنترل کاهش می یابددر حالی که درمبتلایان به انواع لوسمیها و تومورهای توده ای چنین حالتی پیش نمی آید.

همچنین نتایج نشان می دهند که بیشترین میزان ابتلا مربوط به دارندگان گروه خونی A^+ (۲٦درصد)وO^+(۱۸درصد)می باشد که این میزان در مقایسه با درصد گروههای خونی در آذربایجان شرقی مطابقت کامل نداشته و به نظر می رسد که یا زمان نمونه برداری در مقایسه با آمار کل جمعیت کم بوده و یا به علت مراجعه بیماران به سایر شهرها (خصوصاً تهران)می باشد که موجب کاهش در آمار تعداد مبتلایان شده است. اگر چه در مورد برخی بیماریها گروههای خونی خاصی حساستر از سایر گروههای خونی می باشند (۱٤) ولی در مورد بیماریهای لوسمی تا کنون چنین نتیجه ای به اثبات نرسیده است (۱۷). به نظر می رسد جهت بررسی دقیق تر این موضوع بایستی داده ها در مورد گروههای خونی بیماران مبتلا بیشتر از این مقدار باشد.

توصیه می شود برای بررسی دقیقتر ناهنجاریهای کروموزومی و ارتباط آنها با گروههای خونی از روشهای برتر همچون Polymerase Chain Reaction(PCR) و یا Flurescence Insitu Hybridization (FISH) استفاده گردد. حتی روش Sothern Blot برای تشخیص دقیق انواع ترانسلوکاسیونها مناسبتر است (۲۰ و۱۹). به علت محدودیتهای ابزاری متاسفانه استفاده از این سه روش در این تحقیق میسر نگردید و امید است در آینده بتوان از آنها جهت تشخیص دقیق و سریعتر استفاده شود.

References:

۱. همت خواه ف ژنتیک در پزشکی تامپسون. انتشارات شهر آب ؛ ۱۳۷۳؛٤۹۵-٤۷۳؛

۲. احمدیان تهرانی پ: سیتوژنتیک.انتشارات دانشگاه تهران؛ ۱۳۷٦ ؛ ۱۵-۹ .

۳. آساد م: مبانی ژنتیک.انتشارات دنیا۱۳۷۲ ؛ ۸-۱.

٤. درخشان س: اصول طب داخلی هاریسون۱۹؛ بیماریهای خون و لنف . انتشارات آینده سازان؛ ۲٤۰-۲۱۷؛۱۳۷۱.

۵. کسائی فیزیولوژی پزشکی گایتون.جلد ۲؛ ویرایش هشتم؛انتشارات شهرآب؛ ۱۳۷۲.؛ ۷۷۳

6. Heim S , Billstrom R, Kristofferson U , Mandahl N,Strombeck, Mitelman F, Variant Ph translocation in chronic myeloid Leukemia. Cancer Genet Cytogent , 1985 , 18 215-227.

7. Groffen J, Stephenson JR , Heisterkamp N, de Klein A , Bartram CR , Grosveld G,Philadelphia breakpints Chromosomal breakpoints are Clustered within a limited region , bcr, on chromosome 22.Cell ,1984, 36:93-99.

8. Shtivelman E, Lifshitz B, Canaani E . Fused Transcripts of ab1 and bcr Genes in Chronic myelogenous Leukemia. Nature,1985, 315:550-554.

9. Wei-Tong Hsu , Harvey Preisler , Katarina Szego , Rita Sprudzs , and Xue-zhi Hao ,The ABL/BCR Fusion Gene on Chromosome 9 in ph Negative Chronic Myelogenous Leukemia: A Case for Vigilance ,1998, 104:57-60.

10. Tuszynski A, Dhut S, Young BD, etal, Detection and Significance of bcr-abl mRNA transcripts and Fusion Proteins in Philadelphai –Positive Adult Lymphoblastic Leukemia ,1993 , 7:1504-1508.

11. Melo JV,The diversity of BCR-ABL Fusion Proteins and their relationship to Leukemia Phenotype. Blood , 1996, 88: 2375-2384.

12. Verma SR, Human Chromosoms, principles and Arvind Babu , Techniques 2nd ed,1995, 6-78.

۱۳. برونر سو: پرستاری داخلی- جراحی؛ پرستاری بیماری های خون.ترجمه دکتردلاورخان؛انتشارات نشروتبلیغ بشری؛ ۱۳۷۵ ؛ ۳٤-۳۲ .

www.SID.ir

Archive of SID

۱٤. احمدی نظر؛ توزیع نسبی کانسرها بین گروههای خونی بیماران ارجاعی به مرکز انکولوژی تبریز؛پایاننامه؛ استادان رهنما : دکتر ملکی و دکتر واعظ قراملکی ؛ دانشکده داروسازی ؛دانشگاه تبریز؛۷٦-۱۳۷۵.

۱۵. حسینپورفیضی م ع : زیست شناسی سرطان؛ تالیف رادن.ر.و؛ انتشارات دانشگاه تبریز؛؛ ۱۳۷٤ ؛۱۱۵۲.

16. Scridell C.A.,Defaveey R., Herbenia M.,Childhood-lineage Acute Lymphoblastic leuemia :clonality study by the polumerase chain reaction,Jounal of prdiatric Hematology oncology ,19(6).516-522,1997.

17. Frank LM.,Teich N.M., Cellular and Molecular biology of Cancer 3nd editiom, Oxford Univesity press,32-35,1997.

18. 18-Pizzo O., Pm ciples and practice of pediatric oncology ,Lippincut and Ravin,1996.

19. 19-Shimada M., Matsum oto.T., Tanimoto F.A., Recurrent tranlocation, t(16,21)(q24,q22) associated with acute Myelo.

20. Nathan DG.,Orkin SH., Nathan and Oski S., Hematology of Infancy and Childhood Vol.2,5 ed by:W.B. Saunders Company Publisher 1998, 1147 - 200.

www.SID.ir