Archive of SID

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی زنجان
دوره ۱۴، شماره ۵۷، زمستان ۱۳۸۵، صفحات ۲۳ تا ۳۱

بررسی ژنتیکی ریزماهواره‌های کروموزوم ۲۱ در جمعیت آذربایجان‌شرقی و کاربرد آن‌ها در تشخیص مبتلایان به سندروم داون

محبوبه نصیری*، دکتر مرتضی جبارپور بنیادی**، دکتر محمد امین‌بخش***، امید عمرانی****،
دکترفضیله هاشمی*****، دکترمحمدحیدرزاده******

نویسنده مسئول: گروه ژنتیک، دانشگاه تبریز jabbarpour@tabrizu.ac.ir

دریافت: ۸۵/۸/۲۳ پذیرش: ۸۵/۱۰/۲۳

چکیده

زمینه و هدف: *سندروم داون شایعترین اختلال کروموزومی عامل عقب‌ماندگی ذهنی‌است که در ۱/۲۳۰ حاملگی‌ها مشاهده می‌شود. بیماری غالباً از حضور یک کپی اضافی از کروموزوم۲۱، اکثراً با منشأ مادری، ناشی می‌گردد. این‌مطالعه با هدف بررسی سهولت تکثیر ریزماهواره‌های کروموزوم۲۱ با تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و تعیین منشأ خطای میوزی مبتلایان، در جمعیت آذربایجان‌شرقی صورت گرفت.*

روش‌بررسی: *برای بررسی چندشکلی ریزماهواره‌های کروموزوم۲۱، پنجاه نفر ازجمعیت آذربایجان‌شرقی به‌صورت تصادفی انتخاب و تک‌تک افراد برای ریزماهواره‌های انتخاب شده از کروموزوم۲۱ بررسی شدند و نتایج حاصل به‌طور آماری مورد بررسی قرارگرفتند. هم‌چنین افراد مشکوک به سندروم داون، توسط متخصصین نوزادان جهت بررسی مولکولی به آزمایشگاه ژنتیک معرفی شدند. پس از مشاوره‌ی ژنتیکی و اخذ رضایت کتبی، خونگیری به‌عمل آمد. با استفاده از تکنیک PCR، ریزماهواره‌های کروموزوم۲۱ بر روی DNA این افراد تکثیر و بررسی شد.*

یافته‌ها: *هفت ریزماهواره از کروموزوم۲۱ بر روی پنجاه فرد از جمعیت آذربایجان‌شرقی بررسی و پنج عدد از این ریزماهواره‌ها که فرکانس چندشکلی بالا داشتند، جهت مطالعه‌ی افراد مبتلا به سندروم داون معرفی شده از این منطقه، انتخاب شدند. از کل ۳۰ خانواده‌ی مبتلا که جهت بررسی معرفی شده بودند، تریزومی ۲۱ در ۲۱ کودک (۷۰ درصد موارد) تشخیص داده شد. کروموزوم اضافی در ۸۶ درصد موارد منشأ مادری و در ۹ درصد موارد منشأ پدری نشان داد. میانگین سن مادر و پدر به ترتیب ۳۳/۳ و ۳۶/۲ سال محاسبه گردید.*

نتیجه‌گیری: *با استفاده از ریزماهواره‌های D21S1910، D21S11، D21S1411 امکان تشخیص درصد بالایی از موارد تریزومی۲۱ در بین مبتلایان به سندروم داون وجود داشته و با استفاده از این روش امکان تشخیص منشأ خطای میوزی والدی نیز وجود دارد.*

واژگان کلیدی: ***ریزماهواره‌ها، جمعیت شمال‌غرب کشور، سندروم داون، منشاء والدی کروموزوم***

مقدمه

سندروم داون شایع‌ترین اختلال در تعداد کروموزوم است. مبتلایان سندروم داون در بدو تولد با علایمی نظیر عقب‌ماندگی شدید ذهنی و رشدی و ویژگی‌های خاص چهره تشخیص داده می‌شوند(۱،۲). فرکانس بیماری ۱ مورد در

---

* دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز

** دکترای تخصصی ژنتیک پزشکی ملکولی، استادیار دانشگاه تبریز- مرکز تحقیقات بالینی بیمارستان الزهرا، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

*** دکترای تخصصی ژنتیک، دانشیار دانشگاه تبریز

**** کارشناسی ارشد ژنتیک، مربی دانشگاه تبریز

***** فوق تخصص نوزادان، استادیار دانشگاه علوم پزشکی تبریز

****** فوق تخصص نوزادان، استادیار دانشگاه علوم پزشکی تبریز

www.SID.ir

Archive of SID

۷۰۰ تولد زنده گزارش شده است (۳،۲). ۹۵ درصد مبتلایان سندروم داون ناشی از عدم تفرق صحیح کروموزوم‌ها در تقسیمات میوزی بوده و دارای یک کپی اضافی از کروموزوم ۲۱ می‌باشند(۲،۴). در۳ تا ۴ درصد مبتلایان، بیماری ناشی از جابه‌جایی کروموزومی است که به‌طور عمده از نوع جابه‌جایی روبرت‌سونین می‌باشند(۵ ،۴). در یک درصد از مبتلایان حالت موزاییک با دو رده‌ی سلولی طبیعی و تریزومیک گزارش شده است(۶ ،۴). علی‌رغم نامشخص بودن فاکتورهای دخیل در بروز سندروم داون، بررسی‌ها رابطه‌ی مستقیمی را بین سابقه‌ی فامیلی، سن مادر در دوران بارداری و وضعیت هورمونی مادر با این بیماری نشان داده‌اند(۷). براساس گزارشات علمی، در ۸۰ تا ۹۵ درصد مبتلایان به تریزومی ۲۱، کروموزوم اضافی دارای منشأ مادری است(۲). از بین این موارد، ۷۵ درصد ناشی از عدم جدایی صحیح کروموزومی در تقسیم اول میوزی و ۲۵ درصد باقی‌مانده‌ی ناشی از نقص در تقسیم دوم میوز می‌باشند(۱۲،۸ ،۲). در۵ تا ۶ درصد از تریزومی‌های ۲۱، کروموزوم ۲۱ اضافی دارای منشأ پدری بوده (۱۲-۸) که در ۶۰ درصد موارد عدم جدایی کروموزومی در تقسیم دوم میوزی و در بقیه‌ی موارد، عدم جدایی کروموزومی در تقسیم اول میوزی رخ داده است(۱۲).

روش‌های سیتوژنتیکی، نظیر بررسی کاریوتیپ به روش نواربندی گیمسا (G-banding) و هیبریدسازی فلورسنت درجا (FISH) روش‌های قابل اعتمادی جهت تشخیص ناهنجاری‌های کروموزومی از جمله تریزومی کروموزوم ۲۱ می‌باشند ولی این روش‌ها، زمان‌بر و پرهزینه بوده و در اغلب موارد نیاز به کشت سریال سلول‌های خونی یا سلول‌های آمنیوتیک می‌باشد(۱۳). نکته‌ی مهم دیگر این که با استفاده از روش‌های سیتوژنتیکی امکان تعیین دقیق منشاء والدی کروموزوم اضافی وجود ندارد(۱۴). ریزماهواره‌ها در تمام طول کروموزوم‌ها از جمله بازوی بلند کروموزوم ۲۱ توزیع شده‌اند. با انتخاب نشانگرهای مناسب از ناحیه‌ی سانترومری، تلومری و منطقه‌ی کروموزومی دخیل در سندروم داون، امکان تعیین دقیق منشاء والدی کروموزوم ۲۱ اضافی وجود دارد(۱۵). روش تکثیر نشانگرهای ریزماهواره با تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، یک روش بسیار سریع و قابل اعتماد بوده و تفسیر نتایج، نیاز به حداقل تخصص دارد(۱۳). مطالعات تجربی ارزش کلینیکی این روش را ثابت کرده‌اند(۱۶). با استفاده از روش‌های مولکولی هم‌چنین امکان تشخیص تریزومی‌های ۲۱ از مبتلایان به سندروم داون ناشی از جابه‌جایی‌های نامتعادل روبرت سونین وجود دارد. امکان تشخیص سیتوژنتیکی مواردی از سندروم داون که ناشی از بازآرایی ساختمانی کروموزومی (نظیر مضاعف شدگی منطقه‌ی دخیل در سندروم داون) می‌باشند، اکثراً مشکل بوده در حالی‌که تشخیص چنین ناهنجاری‌های کروموزومی با استفاده از روش تکثیر ریزماهواره‌ها امکان‌پذیر شده است(۱۷).در این مطالعه پس از بررسی آماری و محاسبه‌ی میزان چندشکلی نشانگرهای مورد نظر در جمعیت آذربایجان شرقی، از این ریزماهواره‌ها جهت تشخیص مولکولی نوزادان مشکوک به سندروم داون استفاده و در نهایت منشاء والدی کروموزوم اضافی تعیین و رابطه‌ی آن با سن والدین مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

درمرحله‌ی اول از این بررسی، به‌طور تصادفی از جمعیت آذربایجان شرقی ۵۰ فرد انتخاب و بعد از کسب رضایت کتبی، خونگیری به‌عمل آمد. هم‌چنین، ۳۰ نوزاد مشکوک به سندروم داون، که بر اساس معیارهای تشخیص کلینیکی توسط متخصصین نوزادان به آزمایشگاه ژنتیک معرفی شده‌بودند، در این پژوهش مورد بررسی قرارگرفتند.

پس از مشاوره‌ی ژنتیکی، تهیه‌ی شجره‌نامه و تکمیل فرم رضایت‌نامه توسط نمونه‌های پژوهش، از والدین و کودک مشکوک به بیماری نیز توسط پرستار همکار، خونگیری

www.SID.ir

Archive of SID

به‌عمل آمد. به‌منظور جلوگیری از لخته‌شدن خون به میزان ۲۰۰ تا ۴۰۰ میکرولیتر اتیلن دی آمین تترااستیک اسید (EDTA)نیم مولار به خون اضافه و سپس خون در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد تا زمان استخراج DNA نگه‌داری گردید. استخراج DNA از خون محیطی با روش نمک اشباع انجام شد(۱۸)، که مراحل آن به شرح زیر می‌باشد: پس از برداشت مقدار مناسب نمونه‌ی خونی، به منظور لیز گلبول‌های قرمز، سه برابر حجم خون اولیه بافر لیزکننده (۱۵۲ میلی‌مول کلریدآمونیوم و ۱۰ میلی‌مول بی‌کربنات‌سدیم و ۰/۱ میلی‌مول اتیلن‌دی‌آمین‌ترا استیک‌اسید) به خون اضافه و طی چند مرحله‌ی ۱۵ دقیقه‌ای، سانتریفوژ گردید. بعد از تشکیل رسوب سفید- صورتی رنگ و پس از اضافه کردن بافر SE (۱۷۵ میلی‌مول کلرید سدیم، ۶ میلی‌مول EDTA، pH بین ۸ تا ۸/۳)، دترجنت سدیم دو دسیل‌سولفات ۱۰ درصد (SDS) و پروتئیناز K (۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به رسوب حاصل، نمونه یک شبانه‌روز در بن ماری نگه‌داری شد. سپس نمک اشباع و کلروفرم به محلول اضافه کرده و با دور ۳۵۰۰ به‌مدت یک ساعت سانتریفوژ گردید. محلول فاز بالایی حاوی DNA است که پس از جداسازی آن، به منظور ظهور کلاف از الکل اتانول مطلق استفاده شد. کلاف DNA حاصل در اتانل ۷۰ درصد سرد شسته و سپس در مقدار کافی آب مقطر اتوکلاو شده، حل گردیده و در دمای ۲۰- نگه‌داری شد. به منظور تکثیر ریزماهواره‌های مورد نظر از تکنیک PCR ساده استفاده گردید. ریزماهواره‌ها از سراسر بازوی بلند کروموزوم ۲۱ انتخاب شدند(۱۷). ریزماهواره‌های مطالعه شده در این بررسی عبارتند از: D21S11، D21S1910، D21S1411، D21S1270، D21S19، D21S215 و D21S17 بودند. برای انجام PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر، از کلریدمنیزیم ($MgCl_2$) با غلظت نهایی ۱/۵ میلی‌مولار، بافر PCR (کلریدپتاسیم ۵۰۰ میلی‌مولار، تریس اسید کلریدریک ۲۰۰ میلی‌مولار با pH برابر ۸) با غلظت نهایی یک برابر، یک واحد آنزیم تک پلیمراز (شرکت سیناژن)، دزوکسی‌نوکلئوتیدتری‌فسفات (dNTPs) با غلظت نهایی ۰/۲ میلی‌مولار و آب دوبار تقطیر استفاده گردید. تکثیر کلیه‌ی ریزماهواره‌ها با یک برنامه‌ی مشابه و با دمای اتصال متفاوت انجام گرفته است. برنامه‌ی اجرا شده برای تکثیر ریزماهواره‌ها به قرار ذیل بوده است: یک چرخه شامل واسرشته‌سازی اولیه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۳۵ چرخه شامل: ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگرها به رشته‌ی الگو (بسته به نوع آغازگرها بین ۵۴ تا۵۸ درجه‌ی سانتی‌گراد) به مدت ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، آخرین چرخه نیز به مدت ۸ دقیقه در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد خاتمه یافت. اندازه‌ی محصولاتPCR برای ریزماهواره‌های مورد استفاده به قرار زیربوده است:D21S11 به طول ۲۰۰ تا ۲۶۰ جفت باز، D21S1910 به طول ۲۰۰جفت باز، D21S1411 به طول ۲۳۹ جفت باز، D21S1270 به طول ۱۷۴ تا ۱۹۴ جفت باز، D21S19 به طول ۳۰۵ جفت باز، D21S215 به طول ۱۶۸ جفت باز و D21S17 به طول ۲۱۰ جفت باز. محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز گردیده و با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی شدند. نمونه‌های دارای کیفیت برتر برای الکتروفورز با ژل پلی‌اکریل‌آمید ۱۰ درصد انتخاب شدند. برای ظهور نوارهای ایجاد شده بر روی ژل، از رنگ‌آمیزی نیترات نقره استفاده شد.

یافته‌ها

درفاز اول این بررسی، ۵۰ فرد طبیعی از جمعیت آذربایجان شرقی به‌طور تصادفی انتخاب شدند. تمام افراد برای ۷ نشانگر ریزماهواره‌ی متعلق به بازوی بلند کروموزوم ۲۱ (D21S11،D21S1411،D21S1910، D21S1270،D21S171، D21S192 و D21S215) با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مورد بررسی قرار

www.SID.ir

Archive of SID

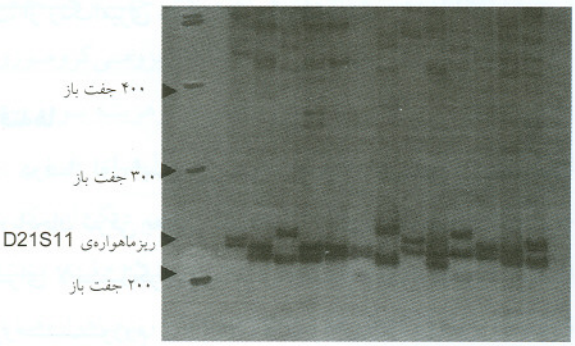
گرفتند. نتایج حاصل از بررسی میزان پلی‌مورفیسم این نشانگرها در جمعیت طبیعی، به‌طور خلاصه در جدول(۱) آورده شده است.

با توجه به این‌که دو نشانگر D21S215 و D21S171 در اکثر موارد مونومورف بودند، از آنالیز حذف شدند.

جدول۱: تعداد آلل، هتروزیگوسی، تنوع ژنی و بازه‌ی اندازه‌ی آللی نشانگرهای ریزماهواره در ۵۰ فرد مورد بررسی

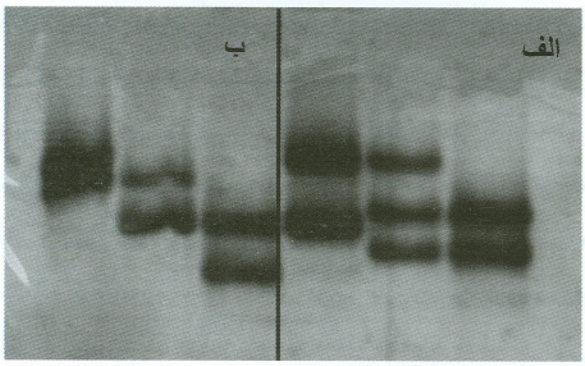
مکان ژنی	تعداد ژنوتیپ	تعداد آلل	تنوع ژنی (هتروزیگوتی مورد انتظار)	هتروزیگوتی (مشاهده شده)	اندازه‌ی آلل (جفت باز)
D21S11	۳۷	۱۹	۰/۹۲۷	۰/٦٦	۲۰۲-۲٦۰
D21S1411	۳۱	۱۸	۰/۹۱٤	۰/۸	۲۳۹
D21S1910	٤۰	۱۹	۰/۹۱۰	۰/۸۲	۱۹۴-۲٦٦
D21S1270	۲۸	۱۳	۰/۸۷۰٤	۰/٤۲	۱۷۴-۱۹۴
D21S192	۱۷	۱۰	۰/۸۳٥٤	۰/۳	۱۹٥
میانگین	۳۰/٦	۱٥/۸	۰/۸۹۱٥۲	۰/٦٦	

با توجه به نتایج حاصل از بررسی میزان چندشکلی نشانگرهای ریزماهواره‌ی مطالعه شده در افراد طبیعی(شکل۱)، ۵ نشانگر ذکر شده در جدول(۱)، برای بررسی وضعیت کروموزومی نوزادان مشکوک معرفی شده، مورد استفاده قرار گرفتند. ۳۰ خانواده با یک عضو مبتلا به سندروم داون، توسط متخصصان و فوق‌تخصصین نوزادان جهت بررسی مولکولی به مرکز ژنتیک ارجاع داده شدند. اکثر مبتلایان در بدو تولد، با علایم خاص چهره از جمله چین اپیکانتوس، زبان درشت و گوشت آلود، گوش‌های بدشکل و خط کف دست میمونی تشخیص داده شده بودند.



شکل ۱: نمونه‌ای از بررسی چندشکلی نشانگر D21S11 در جمعیت نرمال که به‌صورت تصادفی از آذربایجان شرقی انتخاب شده بودند.

در تمام خانواده‌ها، در صورت دسترسی، والدین برای ۵ جفت نشانگر ریزماهواره‌ی کروموزوم۲۱ مورد بررسی قرار گرفتند. میزان مؤثر بودن نشانگرهای استفاده شده در والدین کودکان مبتلا، در جدول ۲ به‌طور خلاصه آورده شده است. با استفاده از این تکنیک از ۳۰ خانواده‌ی بررسی شده، در ۲۱ مورد (۷۰ درصد)، تریزومی کروموزم ۲۱ تشخیص داده شد (شکل۲).



شکل۲: دو خانواده‌ی دارای کودک مشکوک به سندروم داون در این لُل بررسی شده‌اند. در شکل الف، با استفاده از نشانگر D21S11، تریزومی ۲۱ در کودک مبتلا تشخیص داده شده است. کروموزوم ۲۱ در این نوزاد دارای منشأ مادری می‌باشد اما در شکل ب، امکان تشخیص تریزومی با این روش فراهم نشده است و فقط یک کروموزوم از مادر و یکی از پدر به کودک رسیده است.

www.SID.ir

Archive of SID

بعد از شماره‌گذاری آلل‌های مشاهده شده در کودک و والدین، منشأ والدی عدم تفرق صحیح کروموزومی نیز تعیین گردید. از مجموع ۲۱ خانواده‌ای که با استفاده از روش مولکولی، تریزومی ۲۱ آن‌ها مسجل شده بود، منشأ مادری برای کروموزوم ۲۱ در ۱۸ خانواده (۸۶ درصد) و منشأ پدری فقط در ۲ خانواده (۹ درصد) مشاهده گردید. از این ۲۱ خانواده، در یک خانواده (۵ درصد)، به دلیل عدم دسترسی به خون والدین، امکان تشخیص منشاء خطای میوزی وجود نداشت. در ۹ خانواده (۳۰ درصد) باقی‌مانده که تریزومی ۲۱ آن‌ها با استفاده از روش مولکولی مشخص نشده بود، امکان تشخیص منشاء والدی کروموزوم ۲۱ اضافی فراهم نشد. از بین این خانواده‌ها، دریک خانواده (۱۱درصد) فقط امکان دسترسی به خون نوزاد بوده و در ۴ خانواده (۴۴/۵ درصد) نیز فقط یکی از والدین برای خونگیری حضور داشت، در ۴ خانواده دیگر (۴۴/۵ درصد) با استفاده از روش امکان تشخیص منشاء خطای میوزی وجود نداشت (شکل ۲-ب). در نهایت، با استفاده از این تکنیک در کل خانواده‌های بررسی شده، فقط در ۴ خانواده (۱۳ درصد)، امکان تشخیص منشاء والدی کرموزوم اضافی وجود نداشته و در ۸۷ درصد باقی‌مانده در صورت کامل بودن تمام اعضا، امکان بررسی بیشتر جهت تعیین منشاء کروموزوم ۲۱ اضافی وجود داشت. با توجه به اطلاعات شجره‌ای ثبت شده برای خانوده‌ها، میانگین سن مادر و پدر در این مطالعه به‌ترتیب: ۳۳/۳ و ۳۶/۲ سال به دست آمد. سه نشانگر D21S1411، D21S1910 و D21S11 در مقایسه با دو نشانگر مورد مطالعه‌ی دیگر، سطوح بالاتری از چندشکلی را در خانواده‌های مورد مطالعه نشان دادند. به طوری‌که فقط با استفاده از این سه نشانگر، ۲۱ کودک از ۳۰ خانواده‌ی (۷۰درصد) مورد بررسی، تشخیص داده شدند.

جدول۲: میزان کارآیی نشانگرهای ریزماهواره‌ی مورد استفاده در والدین کودکان مبتلا

	D21S192	D21S1910	D21S1270	D21S1411	D21S11
هتروزیگوت برای هر دو والد	۱۵*	۶۰	۳۰	۶۷	۶۷
هتروزیگوت برای یک والد	۳۹	۳۵	۴۸	۳۳	۲۵
هموزیگوت برای دو والد	۴۶	۵	۲۲	۰	۸

* اعداد جدول فوق بیان‌گر درصد می‌باشند.

جدول۳: نشانگرهای STR بررسی شده و فراوانی (درصد) الگوی سه بندی، دوبندی و تک بندی برای هر کدام از آن‌ها در کودکان مبتلا

یک آللی	*دو آللی*	*سه آللی*	*نام نشانگر*
۱۳*	۵۷	۳۰	D21S11
۱۲	۴۴	۴۴	D21S1411
۳۲	۴۶	۲۲	D21S1270
۱۳	۵۸	۲۹	D21S1910
۶۰	۴۰	۰	D21S192

* اعداد جدول فوق بیان‌گر درصد می‌باشند.

www.SID.ir

بحث

با توجه به عدم وجود درمان برای بیماران مبتلا به سندروم داون، مشاوره‌ی ژنتیک و تشخیص بیماران نقش قابل توجهی در جلوگیری از گسترش آن در جامعه دارد. از آن‌جا که ۴۰ تا ۵۰ درصد مبتلایان سندروم داون با ناهنجاری قلبی متولد می‌شوند (۴)، تشخیص و درمان به‌موقع این ناهنجاری‌ها در افزایش طول عمر این مبتلایان نقش قابل توجهی دارد. روش‌های مختلفی برای تشخیص این بیماری مورد استفاده قرار می‌گیرد که روش‌های مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به دلیل حساسیت و سرعت بالا و هم‌چنین سهولت نتیجه‌گیری، از جایگاه ویژه‌ای خصوصاً در تشخیص‌های پیش از تولد برخوردارند. تعیین منشأ والدی کروموزوم ۲۱ اضافی در سندروم داون برای کمک به درک مکانیسم عدم جداشدن صحیح کروموزوم و هم‌چنین تعیین اثر سن مادر بر فراوانی بروز بیماری مهم است(۱). اکثر نشانگرهای ژنتیکی نظیر ریزماهواره‌ها، حاوی توالی‌های تکراری با واحدهای ۲، ۳ و ۴ نوکلئوتیدی هستند، که از نظر طولی چندشکلی نشان می‌دهند(۱۹). چندشکلی طولی نشانگرهای کروموزومی محصول تفاوت طبیعی در جمعیت مورد مطالعه است، به این معنی که هر جمعیت از نظر میزان هتروزیگوسیتی و چندشکلی نشانگرهای ژنتیکی از جمعیت دیگر متفاوت می‌باشد. در جمعیت مورد مطالعه‌ی ما، هیچ‌گونه بررسی آماری در زمینه‌ی محاسبه‌ی تنوع ژنی و هتروزیگوسیتی نشانگرهای کروموزوم ۲۱ صورت نگرفته است. با توجه به فراوانی بالای سندروم داون و احساس نیاز به تشخیص قطعی این بیماری با استفاده از روش‌های سریع و قابل اعتماد، نیاز به انجام چنین مطالعه‌ای در این جمعیت احساس گردید. روش مولکولی مبتنی بر تکثیر قطعات ریزماهواره به‌وسیله واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، در شرایطی که نشانگرهای مربوط به کروموزوم‌های والدی از نظر طول متفاوت باشند، گویا می‌باشد و در این شرایط امکان تشخیص منشأ والدی کروموزوم ۲۱ اضافی به راحتی فراهم می‌شود. اطلاعات بسیاری در ارتباط با توالی واحدهای تکراری نشانگر D21S192 در دسترس نمی‌باشد. نشانگرهای D21S215 و D21S171 در جمعیت مورد مطالعه‌ی ما کاملاً مونومورف بوده و به علت تشکیل نوارهای آینه‌ای امکان تشخیص نوار اصلی از نوارآینه‌ای وجود نداشت. با توجه به این‌که این دو نشانگر از واحدهای تکراری دو نوکلئوتیدی تشکیل شده‌اند، تشکیل نوارهای آینه‌ای دور از انتظار نبود، اما مقدار هتروزیگوتی نسبتاً بالایی (۶۶ درصد) برای نشانگر D21S171 در جمعیت‌های دیگر گزارش شده است که در جمعیت مورد بررسی ما مشاهده نشد. با توجه به این‌که مشاهده‌ی چندشکلی در نشانگرهای ریزماهواره‌ی محصول طبیعی تفاوت در جمعیت‌های مورد بررسی است؛ چنین تفاوتی بین میزان چندشکلی محاسبه شده برای این نشانگر در جمعیت مورد نظر ما و جمعیت‌های دیگر غیرطبیعی به‌نظر نمی‌رسد. نشانگرهای D21S1411، D21S1910، D21S11 و D21S1270 در اکثر مطالعات مربوط به بررسی و تعیین منشأ والدی کروموزوم۲۱ اضافی به روش مولکولی استفاده شده‌اند. در جمعیت مورد بررسی ما نیز مشابه دیگر جمعیت‌های مطالعه‌شده، این نشانگرها هتروزیگوسیتی و تنوع ژنی بسیار بالایی نشان دادند(۱۳،۲،۱). در این بررسی، تشخیص تریزومی کروموزوم۲۱ در مبتلایان به سندروم داون در ۷۰ درصد موارد امکان‌پذیر شد که با نتیجه‌ی حاصل از بررسی مشابه با نشانگرهای ریزماهواره در کشور هندوستان مشابه می‌باشد(۱).

منشاء والدی کروموزوم۲۱ اضافی در این جمعیت، در ۸۶ درصد موارد مادری و در ۹ درصد موارد پدری محاسبه گردید. نتایج به‌دست آمده از مطالعه‌ی حاضر در جمعیت موردنظر با گزارشات قبلی با روش مولکولی مشابه، منطبق می‌باشد (۲۰، ۱۲، ۲). به‌طوری‌که در مطالعه‌ی مشابهی که در منطقه‌ی دیگری از کشور ایران با استفاده از ۵ نشانگر

www.SID.ir

Archive of SID

ریزماهواره‌ی کروموزوم۲۱ انجام گرفته است، به ترتیب منشاء مادری و پدری کروموزوم ۲۱ اضافی را ۸۶ درصد و ۱۴ درصد به‌دست آورده‌اند(۲).

با توجه به اینکه عدم جدایی کروموزومی در تقسیم دوم میوزی، منجر به انتقال دو کپی کاملاً یکسان از یک والد به فرزند می‌گردد، امکان تشخیص چنین تریزومی‌هایی با استفاده از این تکنیک مولکولی وجود نخواهد داشت.

چنین وضعیتی احتمالاً در ۳۰ درصد افراد مبتلای بررسی شده در این مطالعه، رخ داده است. میانگین سن مادر برای ۳۰ خانواده‌ی مورد بررسی در این جمعیت، ۳۳/۳ سال به دست آمد که تفاوت معنی‌داری با مقادیر۵/۲ ± ۳۰ و ۶/۹ ± ۲۹ که به‌ترتیب توسط شرمن(۲۱) و سوجوی گوش و دی در کشور هندوستان(۱)، گزارش شده است، ندارد. میانگین سن پدر در این مطالعه ۳۶/۲ سال برآورد شده است، که نتیجه‌ی به دست آمده در این مطالعه با نتیجه‌ی حاصل از مطالعه‌ی مشابه در هندوستان ۶/۹ ± ۳۸ (۱) و مطالعات دیگر توسط شرمن (۲۱) و آنتوناراکیس(۹)، که سن پدر را به‌ترتیب ۴/۵ ± ۳۸ و ۵/۵ ± ۳۱ اعلام کرده‌اند، تفاوت معنی‌داری ندارد.

نتیجه‌گیری

تشخیص ژنتیکی مبتلایان به تریزومی۲۱ در منطقه‌ی آذربایجان شرقی با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در ۷۰ درصد موارد امکان‌پذیر بوده که در ۸۶ درصد موارد کروموزوم ۲۱ اضافی دارای منشأ مادری و در ۹ درصد موارد کروموزوم اضافی دارای منشأ پدری تشخیص داده شد.

تشکر و قدردانی

مؤلفین از همکاران دانشکده‌ی علوم طبیعی دانشگاه تبریز، مرکز تحقیقات بالینی بیمارستان الزهرا، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی و مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز کمال تشکر را دارند. هم‌چنین از کلیه‌ی خانواده‌های افراد مبتلا که کمال همکاری را در طول این پروژه داشته‌اند و از پرستار همکار، سرکار خانم رقیه ابراهیمی سپاسگزاری می‌نمایند.

منابع

1- Dey SK, Ghosh S. PCR- based detection of parental origin of extra chromosome 21 in Down Syndrome. ***Int J Hum Genet.*** 2005; 5(3): 183-186.

2- Aleyasin A, Mohammad Ganji Sh, Ghazanfari M, Jahanshad F. Prenatal origin of meiotic error of the extra chromosome 21 as indicated by short tandem repeat (STR) polymorphism in Down Syndrome. ***Arch Iranian Med.*** 2004; 7(2): 118-121.

3- Muler RF, Young ID. ***Chromosome disorders in: Emery's Elements of Medical Genetics.*** UK: Churchill-Livingstone. 1995, 215-227.

4- Ahmed I, Ghafoor T, Samore NA, Chttha MN. Down syndrome: Clinical and cytogenetic analysis. ***J Coll Physicians Surg Pak.*** 2005; 15(7): 426-429.

www.SID.ir

Archive of SID

5- Kim SR, Shaffer LG. Robersonian translocations: mechanisms of formation, aneuploidy and uniparental disomy and diagnostic considerations. ***Genet Test.*** 2002; 6(3): 163-8.

6- Richards BW. In Uestigation of 142 mosaic Mongols and mosaic Parents of Mongols, Cytogeretic analysis and Maternal age at birth. ***J Ment Defic Res.*** 1974,18:199.

7- Hook EB. Rates of chromosome abnormalities at different maternal ages. ***Obset Gynecol.*** 1981; 282-285.

8- Yoon PW, Freeman SB, Sherman SL, et al. Advanced maternal age and the risk of Down Syndrome characterized by the meiotic stage of the chromosome error: A population based study. ***Am J Hum Genet.*** 1996; 58: 628.

9- Antoarakis SE. Parental origin of the extra chromosome in trisomy 21 as indicated by analysis of DNA polymorphism. ***N Engl J Med.*** 1991; 24: 872-6.

10- Sherman SL. Trisomy 21: Association between reduced recombination and nondisjunction. ***Am J Hum Genet.*** 1991; 49: 608-620.

11- Ko TM, Hwa HI, Tseng LH, Lin YW, Cheung YP. Fluorescence microsatellite analysis to study the parental origin of the supernumerary chromosome in Down Syndrome. ***Int J Gynaecol Obset.*** 1998; 61(2): 149-53.

12- Jyothy A, Kumar KS, Mallikarjuna, GN, et al. Parental age and the origin of extra chromosome 21 in Down syndrome. ***J Hum Genet.*** 2001; 46: 347-350.

13- Verma L, Macdonald F, Leedham P, McConachie M, Dhanjal S, Hulten M. Rapid and simple prenatal DNA diagnosis of Down's Syndrome. ***Lancet.*** 1998; 352 (9121): 9-12.

14- Paterson MB, Schinzel AA, Blinket F, Tranebjaerg L. Use of short sequence repeat DNA polymorphism after PCR amplification to detect the parental origin of the additional chromosome 21 in Down Syndrome. ***Am J Hum Genet.*** 1991; 48(1): 65-71.

15- Antonarakis SE. 10 years of genomics, chromosome 21 and Down Sundrome. ***Genomics.*** 1998; 51: 1-16.

16- Pertle B, Weitgasser U, Copp, S, Kroisel P.M, Sherlock G, Adinolfi M. Rapid detection of trisomy 21 and 18, and sexing by quantitative fluorescent multiplex PCR. ***Hum Genet.*** 1996; 98: 55-59.

17- Valero R, Marfany G, Gil-Benso R, et al. Molecular characterisation of partial chromosome 21 aneuploidies by fluorescent PCR. ***J Med Genet.*** 1999; 36: 694-699.

18- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF A. Simple salting out procedure for extraction DNA from human nucleated cells. ***Nucleic Acids Research.*** 1998; 16: 1215.

19- Morton NE. Parameters of human genome. ***Proc Natl Acad Sci USA.*** 1991; 88: 7474-7476.

www.SID.ir

Archive of SID

20- Peterson MB, Adelsberger PA, Schinzel AA, Binkert F, Hinkel GK, Antonarakis SE. Down Syndrome due to de novo robertsonian translocation t(14q;21q): DNA polymorphism analysis suggests that the origin of the extra 21q is maternal. ***AM J Hum Genet.*** 1991; 49: 529.

21- Sherman SL. Trisomy 21: Association between reduced recombination and non-disjunction. ***Am J Hum Genet.*** 1991; 49: 608-620.

www.SID.ir