

بررسی مقایسه‌ای کاربوتیپ بستگان درجه یک کودکان ناتوان ذهنی دارای ناهنجاری کروموزومی با بستگان درجه یک کودکان عادی

دکتر محمدعلی حسین پور فیضی^۱، مهندس پروین آذرفام^۲، دکتر زینب خانجانی^۳، مهندس اسماعیل بابایی^۴

^۱ استاد رادیوبیولوژی گروه زیست شناسی دانشکده علوم، دانشگاه تبریز

^۲ مربی فیزیک پزشکی گروه زیست شناسی دانشکده علوم، دانشگاه تبریز

^۳ استادیار گروه روانشناسی دانشکده روانشناسی، دانشگاه تبریز

^۴ مربی ژنتیک مولکولی گروه زیست شناسی دانشکده علوم، دانشگاه تبریز

نشانی نویسنده مسؤول: تبریز، خیابان رازی، تقاطع گلگشت، پارک علم و فناوری استان، دکتر محمدعلی حسین پور فیضی.

E-mail: vahid_r_yassae@hotmai.com

وصول: ۸۵/۱/۲۰، اصلاح: ۸۵/۳/۴، پذیرش: ۸۵/۶/۲۷

چکیده

زمینه و هدف: اولین اختلال کروموزومی در سال ۱۹۵۹ به وسیله لوژن و همکاران گزارش شد و از آن زمان به بعد، مطالعات به نوعی حاکی از ارتباط اختلالات کروموزومی با فنوتیپ ناتوان ذهنی می‌باشد به طوری که امروزه ناهنجاری‌های کروموزومی به عنوان آزمایش اولیه و کمکی در تشخیص اختلالات مادرزادی از جمله ناتوانی‌های ذهنی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در تحقیق حاضر وجود ناهنجاری‌های کروموزومی و فراوانی انواع آن‌ها در بستگان درجه یک کودکان ناتوان ذهنی نسبت به گروه شاهد مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه از نوع مورد-شاهدی است. تعداد ۶۲ نفر از بستگان درجه یک ۱۶ کودک ناتوان ذهنی و ۲۲ نفر داوطلب سالم، نمونه خون محیطی تهیه گردید. بعد از کشت و رنگ‌آمیزی با گیمسای معمولی، گسترش‌های کروموزومی لئوسیت‌های خون محیطی با میکروسکوپ معمولی مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج به دست آمده نشان داد که از مجموع ۶۲ مورد از بستگان درجه یک کودکان عقب مانده ذهنی، ۷۵/۸ درصد دارای نوعی ناهنجاری کروموزومی هستند که ۴۴/۷ درصد از نوع ساختاری، ۲۵/۵ درصد از نوع تعدادی و ۲۹/۷۸ درصد ترکیبی از هر دو را داشتند. ۸۲/۵۴ درصد از والدین مورد بررسی در مقابل ۷۳/۴ درصد خواهر و برادرهای کودکان عقب مانده، دارای کاربوتیپ غیر طبیعی بودند.

نتیجه‌گیری: درصد بالای بستگان درجه یک با کاربوتیپ غیر طبیعی نسبت به گروه شاهد می‌تواند بیانگر ارتباط نزدیک آن‌ها با فنوتیپ غیر طبیعی افراد مبتلا باشد همچنین از آن‌جا که حدود ۷۳/۴ درصد از فرزندان والدین مبتلا به ناهنجاری‌های کروموزومی (حداقل یکی از والدین)، به نوعی دارای اختلالات کروموزومی بودند می‌تواند بیانگر نقش چشمگیر ژنتیک و توارث این اختلالات در آن‌ها باشد که می‌تواند اختلالات ذهنی-جسمی را در کودکان درگیر به دنبال داشته باشد. (مجله دانشکده علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی سبزوار، دوره ۱۳/ شماره ۲/ صص ۹۱-۸۶).

کلمات کلیدی: کاربوتیپ؛ اختلالات کروموزومی؛ ناتوان ذهنی.

مقدمه

مطالعه بر روی اساس کروموزومی وراثت توسط بووری و ساتون در سال ۱۹۰۲ آغاز شد (۸، ۱). از اواخر سال، ۱۹۵۰ مطالعه علمی کروموزوم های انسان میسر گردید (۶، ۱) و از آن زمان به بعد دانش سیتوژنتیک به عنوان وسیله ای برای تشخیص ناهنجاری‌های مادرزادی در پزشکی کاربرد علمی یافت. دکتر کار (۱۹۶۶) بر روی جنین‌های سقط شده مطالعه سیتوژنتیک را شروع کرد و نشان داد که تعداد زیادی از سقطها ناشی از انحرافات کروموزومی می‌باشند (۴، ۳، ۲).

به اعتقاد محققان با بررسی موارد نقص در ژن‌ها و نتایج حاصل از آن‌ها می‌توان به نحوه عملکرد ژن‌های سالم پی برد (۹، ۷). از سوی دیگر، بسیاری از اختلالات ژنی را می‌توان با بررسی اختلالات کروموزومی در مرحله متافازی تقسیم سلول به دست آورد. اختلالات کروموزومی ممکن است به صورت اختلال در ساختمان کروموزوم‌ها یا افزایش و کمبود تعدادی کروموزوم باشد که معمولاً تشخیص آن از طریق مطالعه کروموزوم‌های متافازی امکان‌پذیر می‌باشد (۱۱، ۱۰، ۲).

از طرفی، مطالعات گسترده در زمینه ضریب هوشی نشان می‌دهد که احتمال انتقال ناتوانی ذهنی مادران به فرزندان بیشتر از پدران است، لذا پیدا کردن رابطه بین نوع ناهنجاری‌های کروموزومی کودکان و والدین آن‌ها می‌تواند الگوی مناسبی برای تشخیص پیش از تولد ناهنجاری‌های مادرزادی باشد. در این تحقیق، به منظور یافتن پاسخ به این سؤال که آیا رابطه‌ای بین ناهنجاری‌های کروموزومی کودکان عقب مانده ذهنی با ناهنجاری کروموزومی بستگان درجه یک آن‌ها در مقایسه با گروه شاهد وجود دارد یا نه، از ۶۲ مورد بستگان درجه یک کودکان عقب مانده ذهنی به همراه ۲۲ نفر از گروه شاهد، گسترش‌های کروموزومی تهیه و مورد مطالعه قرار گرفت (۸، ۶).

مواد و روش‌ها

این مطالعه به صورت موردی-شاهدی و با مراجعه به منازل ۱۶ کودک ناتوان ذهنی تحت سرپرستی بهزیستی استان آذربایجان شرقی انجام شد که والدینشان ساکن تبریز بوده و در مرحله اول تحقیق، وجود اختلالات کروموزومی آن‌ها مورد تأیید قرار گرفته بود. از ۶۲ نفر از بستگان درجه یک آن‌ها شامل ۱۰ پدر، ۷ مادر، ۲۲ خواهر و ۲۳ برادر در شرایط استریل نمونه خون محیطی تهیه و سپس ۰/۶ میلی‌لیتر خون کامل به داخل ۸ میلی‌لیتر محیط کشت پایه (۱۶۴۰ RPMI شرکت سیگما) حاوی سرم جنین گاوی (شرکت سیگما)، پروتئین فیتوهم‌آگلوتینین (شرکت سیگما) و آنتی‌بیوتیک اضافه شد. نمونه‌های لقاح یافته به محیط آزمایشگاه منتقل و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شدند. در انتهای ۷۰ ساعت، به منظور به دست آوردن کروموزوم‌های متافازی، به هر واحد لقاح یافته ۲۰ میکرولیتر کلشیسین اضافه کرده و نمونه‌ها به مدت ۲ ساعت دیگر در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شدند. در انتهای ۷۲ ساعت از شروع زمان تلقیح، نمونه‌ها از محلول به داخل لوله سانتریفوژ منتقل و به مدت ۵ دقیقه با دور ۸۰۰ سانتریفوژ گردیدند. سپس محلول رویی دور ریخته شده و به سلول‌های ته‌نشین شده شناور ۵ میلی‌لیتر محلول کلرید پتاسیم با غلظت ۱۰ درصد (به منظور ایجاد حالت تورژسانس یا تورم در سلول‌ها) اضافه کرده و محلول به دست آمده به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی-گراد قرار داده شد. در انتهای ۱۵ دقیقه نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه با دور ۶۰۰، سانتریفوژ شده و سپس محلول رویی تا نیم میلی‌لیتر مانده دور ریخته شد. سپس در مرحله فیکساسیون از محلول کارنوی (نسبت ۱ به ۳: اسید استیک به متانول) به مقدار ۴ میلی‌لیتر بر روی نمونه ریخته و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه (به منظور ثابت‌کردن جایگاه کروموزوم‌ها) نگه داشته شدند. سپس نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در دور ۶۰۰ سانتریفوژ گردیده،

یافته‌ها

یافته‌های حاصل از بررسی گسترش‌های کروموزومی بیانگر آن است که از مجموع ۶۲ مورد بستگان درجه یک کودکان ناتوان ذهنی که قبلاً وجود

جدول ۱: مشخصات ۱۶ کودک ناتوان ذهنی که وجود ناهنجاری کروموزومی آن‌ها در مرحله اول تحقیق تأیید شده بود

نوع ناهنجاری	جنس	کد بیمار	پروبان
مونوزومی گروه E	مونث	۱۳۴	۱
مونوزومی و تریزومی ۲۱	مونث	۸۸	۲
قطعه آستنریک	مونث	۱۰۶	۳
۴۵XO	مونث	۸۴	۴
مونوزومی گروه D	مونث	۱۵۷	۵
قطعه کروموزومی	مذکر	۶۰	۶
تریزومی ۲۲	مونث	۱۹	۷
تریزومی ۲۱	مونث	۱۲۶	۸
۴۵XO	مونث	۹۸	۹
مونوزومی ۱۶	مذکر	۴۲	۱۰
تریزومی ۲۱	مونث	۱۰۵	۱۱
مونوزومی ۲۱	مونث	۱۴۶	۱۲
شکاف تک کروماتیدی	مونث	۱۱۸	۱۳
تریزومی ۲۱	مونث	۱۱۷	۱۴
مونوزومی و تریزومی ۲۱	مذکر	۱۸۶	۱۵
۴۵XO	مونث	۱۴۵	۱۶

محلول رویی تا نیم میلی‌لیتر مانده دور ریخته شد. مرحله فیکس کردن تا بی‌رنگ شدن محلول رویی ادامه یافت. بعد از بی‌رنگ شدن محلول رویی، نیم میلی‌لیتر از باقیمانده محلول که حاوی کروموزوم‌های ثابت شده است بر روی لام‌های خنک و تمیز از فاصله ۵۰ سانتی‌متری گسترانده شدند. سپس لام‌ها در دمای آزمایشگاه خشک شده و با رنگ گیمسای ۱۰ درصد به مدت ۵ دقیقه رنگ آمیزی و لام‌های تهیه شده با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند. به منظور بالا بردن دقت کار، از هر نمونه ۵ لام تهیه شده و از هر لام حداقل ۱۵ پلاک متافازی و از مناطق مختلف گستره تهیه شده، مورد مطالعه قرار گرفت. در مجموع ۷۰ پلاک متافازی مورد بررسی قرار گرفت (۱۲، ۱۴).

در مرحله اول این پژوهش، ناهنجاری‌های کروموزومی ۲۰۷ کودک عقب مانده ذهنی نگهداری شده در مرکز شبانه‌روزی فیاض‌بخش تبریز مورد بررسی قرار گرفته بود و در مطالعه حاضر، ۱۶ نفر از آن‌ها که ناهنجاری کروموزومی داشته و ساکن تبریز بودند انتخاب شده‌اند (جدول ۱).

جدول ۲: فراوانی انواع ناهنجاری‌های کروموزومی در افراد تحت بررسی

نسبت	فوتیپ طبیعی	فوتیپ معلول	گسترش کروموزومی طبیعی	ناهنجاری تعدادی	ناهنجاری ساختاری	ساختاری - تعدادی
خواهر	۱۹	۳	۱۱	۴	۴	۳
برادر	۲۰	۳	۱	۶	۱۲	۴
پدر	۱۰	-	۲	۲	۲	۴
مادر	۶	۱	۱	-	۳	۳
مجموع	۵۵	۷	۱۵	۱۲	۲۱	۱۴

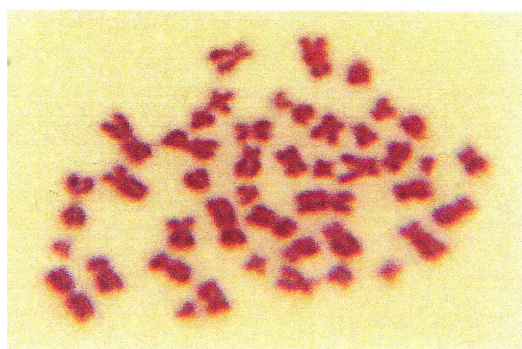
جدول ۳: فراوانی انواع ناهنجاری‌های کروموزومی گروه شاهد

نسبت	گسترش طبیعی	ناهنجاری تعدادی	ناهنجاری ساختاری	جمع
خواهر	۱۰	۱	۱	۱۲
برادر	۸	۱	۱	۱۰
جمع	۱۸	۲	۲	۲۲

و ۸۱/۸ درصد ترکیبی از هر دو را نشان دادند (شکل ۱و۲). نتایج به دست آمده از گروه شاهد نیز بیانگر سالم بودن کاربوتیپ آن‌ها از نظر اختلالات کروموزومی می‌باشد. که در ۴ مورد از آن‌ها به نوعی ناهنجاری کروموزومی مشاهده شد ولی از نوع موزایسیم بودند بدین معنی که در کنار سلول‌های با گسترش طبیعی، سلول‌هایی با کاربوتیپ غیر طبیعی نیز مشاهده گردید.

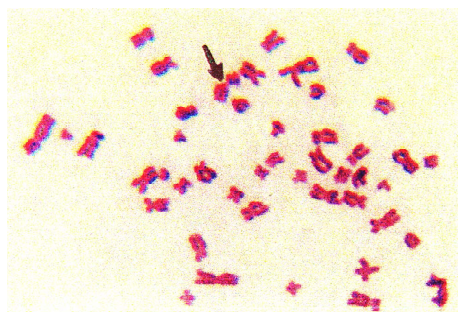
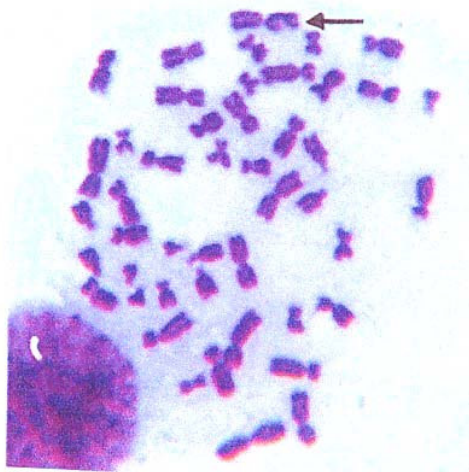
بحث

مطالعه فراوانی ناهنجاری‌های کروموزومی در بستگان درجه یک افراد با اختلالات کروموزومی و فنوتیپ معلول ذهنی- جسمی هدف اصلی این مطالعه می‌باشد. ناهنجاری‌های کروموزومی به دلیل اختلال در عملکرد صحیح سلول‌ها به خصوص در مراحل رشد و نمو جنین پیامدهای ذهنی- جسمی وخیمی را در کودکان مبتلا به دنبال خواهد داشت که در صورت تشخیص زودرس و یا قبل از تولد تا حدودی می‌توان از درجه بدخیمی آن‌ها کاست(۱،۵). در مطالعه حاضر، درصد بالای بستگان درجه یک با کاربوتیپ غیر طبیعی نسبت به گروه شاهد می‌تواند ضمن تأیید نتایج سایر محققان، بیانگر ارتباط نزدیک آن‌ها با فنوتیپ غیر طبیعی افراد مبتلا باشد



تصویر ۲: ناهنجاری تعدادی کاربوتیپ فرد XO 45 می‌باشد.

اختلالات کروموزومی در آن‌ها ثابت شده بود، حدود ۷۵/۸ درصد (۴۷ مورد) به نوعی دارای ناهنجاری کروموزومی داشتند که از این تعداد ۱۴/۹ درصد (۷ مورد) دارای فنوتیپ ناتوان ذهنی- جسمی بودند. همچنین از ۶۲ مورد بستگان درجه یک، ۴۵ نفر جزء خواهر و برادران



تصویر ۱: ناهنجاری ساختاری،

الف: علامت پیکان شکاف روی کروموزوم شماره یک را نشان می‌دهد.

ب: علامت پیکان افتادگی سانترومر در کروموزوم شماره دوران نشان می‌دهد.

بیماران تحت مطالعه بودند که حدود ۷۳/۴ درصد از آن‌ها کاربوتیپ غیر طبیعی داشتند؛ در حالی که از ۱۷ نفر والدین بررسی شده، ۸۲/۵۴ درصد دارای کاربوتیپ غیر طبیعی بودند.

از تعداد ۴۷ نفر بستگان با ناهنجاری کروموزومی، ۲۵/۵ درصد از نوع تعدادی، ۴۴/۷ درصد از نوع ساختاری

اختلالات ذهنی - جسمی را نشان می دهند. این مطلب در مورد والدین هم صدق می کند به طوری که تنها دو مورد از ۱۷ نفر والدین تحت بررسی، اختلالات عددی داشتند که دچار عقب ماندگی ذهنی هم بوده اند، در حالی که اکثر آنها دارای اختلالات ساختاری بوده و آن را به فرزندان خود انتقال داده اند. در مجموع با توجه به نتایج این تحقیق و گزارش های مشابه می توان گفت که اختلالات کروموزومی نقش بسزایی در بروز افراد با ناتوانی ذهنی دارند و بررسی والدین و جنین های درگیر از نظر اختلالات کروموزومی می تواند نقش مهمی در اطلاع رسانی آنها مبنی بر تولد جنین فرزندان و همچنین جلوگیری یا کاهش شدت این نوع ناهنجاری ها داشته باشد که دست یابی به این مهم، نیازمند مطالعه نمونه های بیشتر می باشد.

همچنین حدود ۷۳/۴ درصد از فرزندان والدین با ناهنجاری های کروموزومی (حداقل یکی از والدین)، به نوعی دارای اختلالات کروموزومی بودند که می تواند بیانگر نقش چشمگیر ژنتیک و توارث این اختلالات در آنها همراه با اختلالات ذهنی - جسمی را در کودکان درگیر به دنبال داشته باشد.

درصد بالایی از ناهنجاری های مشاهده شده در بستگان درجه یک افراد مبتلا از نوع ساختاری می باشد؛ در حالی که افراد پروباند، در اکثر موارد تغییرات تعدادی را نشان داده و فنوتیپ ناتوان ذهنی داشته اند. به نظر می رسد تغییرات ساختاری نسبت به انواع تعدادی تأثیر ملایم تری در فنوتیپ دارند به طوری که بسیاری از جنین های با تغییرات تعدادی در مراحل اول تکوین سقط شده و یا می میرند و در صورت تولد با احتمال بالایی،

References

1. Raymond F, Tarpey P. The genetics of mental retardation. *Human Molecular Genetics* 2006; 15:110-116.
2. Vasseen A, Al Mosavi TA. Cytogenetic study in severely mentally retarded patients. *Saudi Med J* 2001;22: 444-449.
3. Hamerton JL, Stranc L. Defining the chromosomal basis of mental handicap. *Lancet* 1999; 13 (354): (1659-60).
4. McDermott, A. Introduction in Cytogenetics of man and other animals John Wiley and Sons, New york, pp:7, 1975
- 5- نلسون " اختلالات قبل از تولد بیماری های ژنتیک " ترجمه عالمی - عبدالله - انتشارات جعفری - مرداد ۱۳۷۳.
6. Jhnsson B, Brondum K, Beillstrom R. Translocations between the long arms of chromosomes 1 and 5 in hematologic malignancies are strongly associated with neoplasm of the Myeloid lineage. *Cancer Genet Cytogenet* 1997; 101: 99-97
7. Verma SR. Human Chromosomes, Principles and Techniques. 2nd edition, RAM.S, Verma. Aruind, Babu - pp: 72-78, 1995.
8. Inlow JK, Restifo LL. Molecular and comparative genetics of mental retardation. *Genetics*, 2004 166(2): 835-81
9. Chiurazzi P, Oostra BA. Genetics of mental retardation. *Curr Opin Pediatr*. 2000, 12(6): 529-35
10. Simonoff E, Bolton P, Rutter M. Mental retardation: genetic findings, clinical implications and research agenda. *J Child Psychol Psychiatry* 1996; 37(3): 259-80
11. Barisic I, Petkovic I, Hecimovic S. Evaluation of genetic causes of mental retardation. *Lijec Vjesn* 2003;125 (3-4): 71-7

۱۲- حسین پور فیضی محمدعلی - آذرفام پروین - بنیادی محمدرضا . بررسی کاریوتیپ ۲۰۷ نفر عقب مانده ذهنی تحت سرپرستی بهزیستی استان آذربایجان شرقی در سال ۱۳۷۵ . مجله پزشکی ارومیه، ۱۳۷۶، سال هشتم ، شماره ۳، صفحات ۲۲۰ ، ۱۹۵ پاییز.

13. Carlos A, Crideli MD. Children B Lingeage Acute Lymphoblastic Leukemia Clonality Study by the Polymerase Chain Reactions. Journal of Pediatric Hematology / Oncology 1997; 19 (6): 516-522.

۱۴- حسین پور فیضی، محمد علی و همکاران. مطالعه ناهنجاری های کروموزومی بیماران مبتلا به لوسمی مراجعه کننده به بیمارستان کودکان تبریز (۷۷-۱۳۷۶)، هشتمین کنفرانس فیزیولوژی و فارماکولوژی - اردیبهشت ۱۳۷۸.