

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<sup>۱</sup> دکتر عباسعلی حسین پورفیضی<sup>۲</sup> مهندس مریم شجاعی<sup>۳</sup>  
مهندس پروین آذرفام<sup>۴</sup>

### 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 (۳۳ مذکر و ۱۷ مونث) زیر ۱۲ سال با متوسط سنی ۶ سال مراجعه کننده به بخش خون بیمارستان کودکان تبریز از مهرماه سال ۱۳۷۶ لغایت شهریور ماه سال ۱۳۷۷ مورد بررسی قرار گرفته است.

**روش بررسی:** نمونه ها به طور تجربی از خون محیطی و مغز استخوان تهیه و به روش میکرو کشت کروموزومی داده شده و سپس گسترش کروموزومی به روش گیمسای معمولی و نواری 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 (۱۴مذکر و ۷مونث) بودند. همچنین بیشترین میزان ابتلا در میان دارندگان گروه خونی A+(۲۶٪) (۹ مذکر ۴ مونث) مشاهده گردید.

**بحث:** نتایج به دست آمده از مطالعه گسترشهای کروموزومی نشان داد که تعداد ۲۴ نمونه (۱۸ مذکر و ۶ مونث) دارای گسترشهای کروموزومی بودند که بیشترین نوع ناهنجاری از نوع قطعه اسنتریک (۸مورد) و ترانسلوکاسیون (۶مورد) می باشد. که اختلاف معنی داری را نسبت به گروه کنترل نشان می دهد ( $P < 0.05$ )

**کلمات کلیدی:** ناهنجاریهای کروموزومی - لوسمی - گروههای خونی

### مقدمه

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: ۱- سارکوم که در آن تومور از بافت مزانشیال منشا می گیرد. ۲- کارسینوم که از بافت اپتلیال منشا می گیرد. ۳- بد خیمیهای سیستم خونساز و لنفوییدی (۴).

کلمه ژنتیک اولین بار توسط ویلیام بییتسن در سال ۱۹۰۷ به کاربرده شد. او علم ژنتیک را علم وراثت معرفی کرد (۱). گریگور مندل اساس توارث را توسعه داد (۲) و در سال ۱۹۵۳ واتسون و کریک ساختمان مولکولی DNA را شرح دادند (۳). در اواخر ۱۹۵۰ تکنیکهای بررسی دقیقتر کروموزومهای انسان توسعه یافت و محققین در مورد نقش کروموزومها درنمو جنسی و

۱- استاد رادیوبیولوژی - دانشکده علوم طبیعی دانشگاه تبریز - نویسنده رابط

۲- استادیار - بخش خون - بیمارستان کودکان تبریز

۳- مربی - دانشکده علوم طبیعی - دانشگاه تبریز

۴- مربی دانشکده علوم طبیعی - دانشگاه تبریز

از کشت به روش معمولی (۱۲) ناهنجاریهای کروموزومی گسترشهای به دست آمده مورد بررسی قرار گرفت.

### نمونه گیری

خونگیری از سیاهرگ توسط سرنگ حاوی هپارین (ضد انعقاد) از سیاهرگ جلدی آرنج و در برخی افراد چاق (و افرادی که به دلیل شیمی درمانی دچار ترومبوز 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 دیگر تمیز گردید. سپس ناحیه کوچکی از پوست و زیر پوست تا استخوان 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 آن آسپیره گردید (۱۳).

تهیه محیط کشت سلولی: به ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت RPMI1640 ۲۰ میلی لیتر جنین گوساله (Fcs) به عنوان منبع غذایی و ۲ میلی لیتر فیتو هما گلویتین (PHA) جهت تحریک تقسیم سلولی اضافه شد. محیط کشتهای آماده RPMI 1640 خریداری شده از شرکت بهار، خود محتوی مقادیری از آنتی بیوتیکهای پنی سیلین و استرپتومایسین بوده که جهت جلوگیری از رشد میکروبها به آن اضافه شده بود.

پس از اضافه شدن ترکیبات ذکر شده محیط با بیکربنات سدیم (NaHCO<sub>3</sub>) در حدود ۷/۴ تعدیل گردید. در آخر محیط کشت در شیشه های استریل کوچک (۸ میلی لیتر هر کدام) 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 آگلویتین منتقل گردیده و پس از انتقال 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 آگلویتین منتقل و پس از تلقیح محیطهای کشت به مدت سه روز در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شدند؛ در پایان ۷۰ 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.

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 (Hairy Cell) است. از بیماریهای میلوپرولیفراتیون و پلاسمهای سلول بنیادی خونساز فرم لوسمی میلوژنی مزمن (CML) نیز وجود دارد (۵).

کروموزوم فیلادلفیا ناشی از ترانسلوکاسیون کروموزومهای ۱۲ و ۹ به صورت (q34.1, q11.2) (9,22) t است. مهمترین علامت بیماران CML بوده که در بیش از ۹۰٪ آنها دیده می شود. دره تا ۱-۰ درصد بیماران مبتلا به CML، کروموزوم فیلادلفیا از یک جابجایی ساده یا ترانسلوکاسیون پیچیده مشتق می شود (۶).

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 جدید BCR/ABL بر روی کروموزوم شماره ۲۲ می شود (۷). این ژن جدید به صورت یک ma بزرگ کایمرایی نسخه برداری شده و این ma به فرم mRNA با اندازه ۸/۵ کیلو باز با دو شکل b3a2 و b2a2 بر می آید (۸). این mRNA به صورت یک پروتئین با اندازه ۲۱۰ کیلو دالتون (ترجمه شده) می باشد که نقش اصلی را در ایجاد برخی علائم در بیماران مبتلا به CML ایفا می کند (۹).

به نظر می رسد تا ۱۵ تا ۲۰ مبتلایان ALL نیز دارای کروموزوم فیلادلفیا باشند و نسبت آن 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 در ژن BCR بستگی 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 کیلو باز و پروتئینی با اندازه ۱۹۰ کیلو دالتون را ایجاد می کند. مابقی ژن BCR-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 (۷۷-۷۶) نمونه های خون محیطی و مغز استخوان تهیه و پس

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 نداشتند 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؛ ۲۴ مورد دارای گسترش کروموزومی قابل مطالعه و ۲۶ مورد فاقد گسترش مناسب بودند و از گسترشهای قابل مطالعه؛ ۶ نمونه از بیماران مبتلا به ALL؛ سه نمونه مربوط به بیماران AML و ۴ نمونه به مبتلایان CML مربوط می شد. ۲۶ 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 اختلالات کروموزومی مشاهده شده در آنالیز کروموزومی بیماران به انواع سرطانها نسبت به کنترل، افزایش معنی داری نشان می دهد ( $P < 0.05$ ).

## 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؛ ۳۲ نفر (۶۴ درصد) مذکر و ۱۸ نفر (۴۶ درصد) مونث بودند و متوسط سن کودکان تحت مطالعه ۶ 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 (۲۵ درصد) دارای گروه خونی A +؛ ۹ نفر (۱۷/۵ درصد) دارای گروه خونی O +؛ ۶ نفر (۱۱/۷ درصد) دارای گروه خونی B +؛ ۴ نفر (۷/۸ درصد) دارای گروه خونی AB +؛ ۲ نفر دارای گروه خونی A- و 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 نفر به لوسمی؛ ۷ نفر به تومورهای توده ای و ۴ نفر به بیماریهای گروه کنترل تعلق دارند. ۱۲ نفر به طور سرپایی مراجعه و قبل از تشخیص مرخص

جدول ۱- جدول فراوانی سنی کودکان مراجعه کننده به بخش خون بیمارستان کودکان تبریز

(مهرماه ۷۶ لغایت شهریور ۱۳۷۷)

گروه سنی	مذکر	مونث	کل
زیر یکسال	۲	۲	۴
۱-۳	۴	۱	۵
۳-۶	۹	۱	۱۰
۶-۹	۶	۴	۱۰
۹-۱۲	۱۳	۸	۲۱
بالای ۱۲ سال	-	۱	۱
جمع	۳۳	۱۷	۵۰

جدول ۲- لیست مشخصات کودکان مراجعه کننده به بخش خون بیمارستان کودکان تبریز  
(مهرماه ۷۶ لغایت شهریور ۱۳۷۷)

کل	مونث	مذکر	نوع بیماری
۲۱	۷	۱۴	لوسمی لنفوبلاستیک (ALL)
۳	-	۳	لوسمی میلو بلاستیک (AML)
۲	۲	-	لوسمی میلو بلاستیک مزمن (CML)
۴	۱	۳	لنفوم بورکیت
۲	۱	۱	آنوپلاستیک لارج سل (ALCL)
۲	۲	-	نوروبلاستوما (NRO)
۲	۱	۱	آنمی مگالوبلاستیک
۲	۱	۱	ITP
۱	-	۱	لیشمانیازیس
۱۱	۴	۷	بیماران سرپایی*
۵۰	۱۹	۳۱	جمع

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

۳- جدول نوع ناهنجاری کروموزومی کودکان مراجعه کننده به بخش خون بیمارستان کودکان تبریز  
(مهرماه ۷۶ لغایت شهریور ۱۳۷۷)

کل	مونث	مذکر	نوع ناهنجاری کروموزومی
۱۰	۳	۷	سالم
۱	-	۱	تریزومی
۲	-	۲	مونوزومی
۳	-	۳	شکاف کروموزومی
۴	۱	۳	دی سانتریک
۲	۱	۱	فیلا دلفیا
۶	۱	۵	ترانسلوکاسیون
۵	۱	۴	اختلال تعدادی
۴	۱	۳	آندروپلیکاسیون
۱	-	۱	تریپلوئیدی
۱	۱	-	پلی پلوئیدی
۸	۴	۴	قطعه آسنتریک
۲۳	۱۰	۱۳	فاقد گسترش
۷۰	۲۳	۴۷	جمع

نمودار ۱- نمودار فراوانی سنی کودکان مراجعه کننده به بخش خون بیمارستان کودکان تبریز  
(مهرماه ۷۶ لغایت شهریور ۱۳۷۷)

## بحث

مهر ماه سال ۷۶ 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(۱۴). این نسبت در میان کودکان نیز با امار کل در استان مطابقت دارد.

یافتن پاسخ به این سؤال که آیا رابطه ای بین انواع سرطانها و ناهنجاریهای کروموزومی وجود دارد یا نه؟ از دیر باز نظر محققین بوده و آنها 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

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 (۱۴) 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 Fluorescence In situ Hybridization (FISH) استفاده گردد. حتی روش Southern Blot برای تشخیص دقیق انواع ترانسلوکاسیونها مناسبتر است (۲۰ و ۱۹). 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.

برخلاف انتظار که حداکثر میزان شیوع بیماری ALL در سن ۴ سالگی گزارش شده (۱۳)؛ در مطالعه حاضر حداکثر میزان شیوع مربوط به گروه سنی ۱۰ و ۱۱ 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 ۴۰۰ بیمار بالای ۱۲ سال مراجعه کننده به بخش خون بیمارستان شهید قاضی طباطبائی تبریز (۷۶-۱۳۷۵) (۱۴) 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 یابند در حالی که در مبتلایان 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  $A^+$  (۲۶ درصد) و  $O^+$  (۱۸ درصد) می باشد که این میزان در مقایسه با درصد گروههای خونی در آذربایجان

## References:

۱. همت خواه ف ژنتیک در پزشکی تامپسون. انتشارات شهر آب ؛ ۱۳۷۳؛ ۴۹۵-۴۷۳؛
۲. احمدیان تهرانی پ: سیتوژنتیک. انتشارات دانشگاه تهران؛ ۱۳۷۶؛ ۱۵-۹.
۳. آساد م: مبانی ژنتیک. انتشارات دنیا ۱۳۷۲؛ ۸-۱.
۴. درخشان س: اصول طب داخلی هاریسون ۱۹؛ بیماریهای خون و لنف. انتشارات آینده سازان؛ ۲۴۰-۲۱۷؛ ۱۳۷۱.
۵. کسائی فیزیولوژی پزشکی گایتون. جلد ۲؛ ویرایش هشتم؛ انتشارات شهر آب؛ ۱۳۷۲؛ ۷۷۳
6. Heim S , Billstrom R, Kristofferson U , Mandahl N, Strombeck, Mitelman F, Variant Ph translocation in chronic myeloid Leukemia. Cancer Genet Cytogenet , 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 *abl* and *bcr* Genes in Chronic myelogenous Leukemia. Nature, 1985, 315:550-554.
9. Wei-Tong Hsu , Harvey Preisler , Katarina Szego , Rita Sprudz , 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. Tuszyński A, Dhut S, Young BD, et al, Detection and Significance of *bcr-abl* mRNA transcripts and Fusion Proteins in Philadelphia -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 Chromosomes, principles and Arvind Babu , Techniques 2<sup>nd</sup> ed, 1995, 6-78.
۱۳. برونر سو: پرستاری داخلی- جراحی؛ پرستاری بیماری های خون. ترجمه دکتر دلاور خان؛ انتشارات نشر و تبلیغ بشری؛ ۱۳۷۵؛ ۳۴-۳۲.

۱۴. 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؛ ۷۶-۱۳۷۵.
۱۵. حسینپورفیضی م ع : زیست شناسی سرطان؛ تالیف رادن.ر.و؛ انتشارات دانشگاه تبریز؛؛ ۱۳۷۴؛ ۱۱۵۲.
16. Scridell C.A., Defaveey R., Herbenia M., Childhood-lineage Acute Lymphoblastic leuemia :clonality study by the polumerase chain reaction, Journal of pndiatric 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. Pizzo O., Principles and practice of pediatric oncology, Lippincut and Ravin, 1996.
19. Shimada M., Matsumoto 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.