جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقاله پژوهشی

به کارگیری aCGH در ناهنجاری‌های کروموزومی

رکسانا کریمی نژاد، کیمیا نجفی، کیا نجفی، مریم عباسی، آزاده مشتاق و محمدحسن کریمی نژاد*
تهران، شهرک غرب، خیابان حسن سیف، کوچه چهارم، پلاک ۱۱۴۳، مرکز ژنتیک و پاتولو ژی کریمی نژاد – نجم آبادی

چکیده

پس از شرح مختصری در مورد تولد دانش سیتوژنتیک (۱۹۵۶) و کاربرد آن در پزشکی (۱۹۵۹) به عنوان آزمایش ارزنده ای برای تشخیص بیماریهای ارثی ناشی از ناهنجاریهای کروموزومی، محدودیت دامنه کارآیی آن، محققین را بر آن داشت روش‌های نواری Banding را کشف و به کار گیرند.
این روش توانست بسیاری از مشکلات و محدودیت‌های قبلی را مرتفع نماید ولی باز در مواردی به ویژه در نمونه‌هایی که امکان کشت بافت مقدور نبود، همچنین در ناهنجاریهای کوچک (ریزحذفی‌ها) قادر به تعیین تشخیص نبود. خوشبختانه روش (Fluorescent FISH) in Situ Hybridization توانست بسیاری از مشکلات را برطرف کند ولی چون برای بررسی هر مورد بیماری احتیاج به ردیاب (پروب) خاص داشت و مانند روش سابق قادر به بررسی نسوج نکروز نبود.
تکنیک جدید (Array Comparative Genomic Hybridization (aCGH که مهمترین مزیت آن امکان بررسی نسوج نکروز و مرده می‌باشد و مزیت مهم دیگر اینکه می‌توان تمام ژنوم را یکجا مطالعه نمود و هر گونه کمبود و یا افزایش ماده کروموزومی را به وضوح مشاهده نمود. روش برتر روز شناخته شده و کارآیی برتری انجام می‌دهد.
نظر به اینکه تعداد قابل توجهی از موارد ارجاعی بدین مرکز مربوط به جنین‌های مرده زا و کورتاژ ماحصل آبستنی فاقد نسج زنده می‌باشد و بررسی نمونه از نظر ناهنجاریهای کروموزومی مورد درخواست پزشکان بالینی است، برای رفع این کمبود امکانات فنی و متخصصین سیتوژنتیک مجرب را فراهم آورده ایم. در پایان نتیجه دومورد که با بکار گیری مجموعه روشهای جدید سیتوژنتیک و Fish و aCGH به نتیجه قطعی رسیده ایم گزارش می‌شود.
واژگان کلیدی: سیتوژنتیک؛ بیولوژی مولکولی؛ In situ hybridization, fluorescence؛ Comparative genomic hybridization

دیباچه: کروموزوم و سیتوژنتیک

اولین بار در سال ۱۸۴۲، کارل ویلهلم ناژلی نوارهایی را در گیاهان شناسایی کرد (۱). آوری[1] نشان داد ساختار شیمیایی اسید نوکلئیک (DNA) مسؤول تغییر خصوصیات پنوموکوک است (۲). خصوصیات کروموزومها در مارمولک به‌وسیله ساتون، در سال ۱۸۸۲، گزارش شد. نام کروموزوم به‌وسیله والدیر، آناتومیست آلمانی، در سال ۱۸۸۸، پیشنهاد شد. به نظر می‌رسد لواتسکی[2] اولین کسی است که شکل ظاهری کروموزومها را در سلولهای سوماتیک مشاهده کرد (۳). در سال ۱۹۲۲ پینتر[3] تعداد کروموزومهای انسان را در بیوپسی بیضه بین ۴۶ و ۴۸ عدد گزارش کرد. او اصرار داشت کاریوتایپ مرد را موزاییک

* محمد حسن کریمی نژاد، MD
استاد پاتولوژی و ژنتیک دانشگاه تهران
مرکز پاتولوژی و ژنتیک کریمی نژاد-نجم آبادی
شهرک غرب، میدان صنعت، شماره ۱۱۴۳،
کد پستی ۱۴۶۶۷۱۳۷۱۳ تلفن : ۵ - ۸۸۳۶۳۹۵۲
تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۵/۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۶/۱۰

1. Avery
2. Levitsky
3. Painter

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

XX/XY بداند (۴) . ساتون[۴] نام سیتولوژی و ژنتیک را بهم پیوست و اصطلاح سیتوژنتیک را وارد ادبیات ژنتیک نمود (۱).

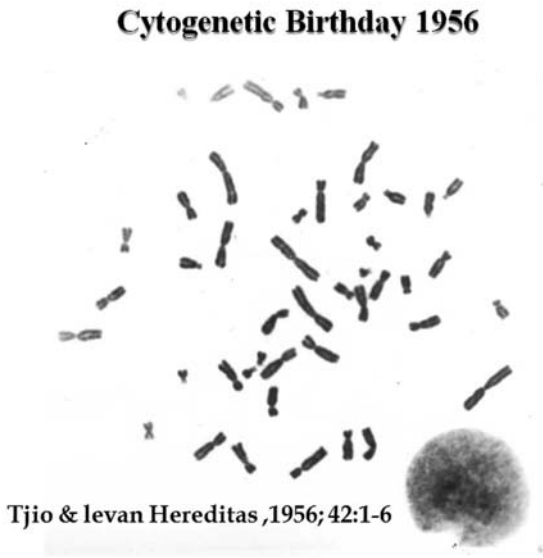
مک‌کلینتوک[۵] با انجام آزمایش‌هایی روی ذرت نشان داد رنگ‌های متنوع دانه‌های ذرت نتیجه نوترکیبی کروموزوم‌ها است و توانست چگونگی توارث شکستگی کروموزوم‌ها را ملاحظه کند. وی حالت جابه‌جایی را در کروموزوم‌ها نشان داد و برنده جایزه نوبل ۱۹۳۳ شد (۵). با این حال، اهمیت کاربردی کروموزوم‌ها در ژنتیک انسانی مدت‌ها به‌طول انجامید.

مهم‌ترین پیشرفت در ابتدای سال ۱۹۵۰ استفاده از محلول هیپوتونیک به محیط حاوی سلولهای در حال رشد به‌وسیله تی سی هسو[۶] بود (۶). در اواسط سده بیستم، دکتر لون و همکاران، در دانشگاه لوند سوئد، مطالعاتی بر روی کشت ریه جنین و بررسی ساختار کروموزوم‌ها انجام می‌دادند. بنا بر گفته دکتر هوگه، استاد ژنتیک دانشگاه ادنسی و سردبیر مجله هردیتا، تکنیسین سیتوژنتیک مسؤول کشت و تهیه کاریوتایپ مبتلا به بیماری نقرس و از داروی کلشیسین استفاده می‌کرد، اشتباهاً نمونه کشت را به داخل لوله‌ای ریخت که کلشیسین را در آن حل کرده بود با نهایت شگفتی با تعداد قابل توجهی متافاز مواجه شد. همین اتفاق موجب شناخت دقیق تعداد و ساختار کروموزوم‌ها و انتشار مقاله تجیو و لوون شد (۷)، شکل شماره(۱).

بعد از این کشف، کشت سلول‌های انسان و مطالعه کروموزوم‌ها مورد توجه دانشمندان قرار گرفت.

در سال ۱۹۵۹ ژروم لوژن افزایش کروموزوم ۲۱ (تریزومی ۲۱) را در طفل مبتلا به سندرم داون (۸)، دکتر پاتو و همکاران (۹) تریزومی ۱۳، دکتر ادوارز و همکاران تریزومی ۱۸ (۱۰)، کمبود و افزایش سلول‌های جنسی نشانگان ترنر و کلاین فلتر توسط_چارلز فورد و پاتریشیا ژاکوبسون، کروموزوم فیلادلفیا در لوسمی میلوئید مزمن در سال ۱۹۶۰ توسط نول و همکاران گزارش شد که ۱۳ سال بعد ژانت رولی[۷] نشان داد این کروموزوم نتیجه جابجایی بین کروموزوم ۲۲ و ۹ می‌باشد.

به این ترتیب دانش جدیدی، به نام سیتوژنتیک، به جهان پزشکی معرفی شد و سیتوژنتیک وسیله‌ای برای تشخیص بیماری‌ها مورد استفاده قرار گرفت. اولین گردهمایی متخصصان سیتوژنتیک، به ریاست دکتر چارلز فورد و با حضور ۱۴ نفر، در سال ۱۹۶۰ در شهر دنور، تشکیل و الفبای سیتوژنتیک شامل دسته‌بندی، نام‌گذاری و افزایش و کمبود تعداد و ناهنجاری‌های ساختاری کروموزوم‌ها پایه‌گذاری شد (۱۱). پیشرفت

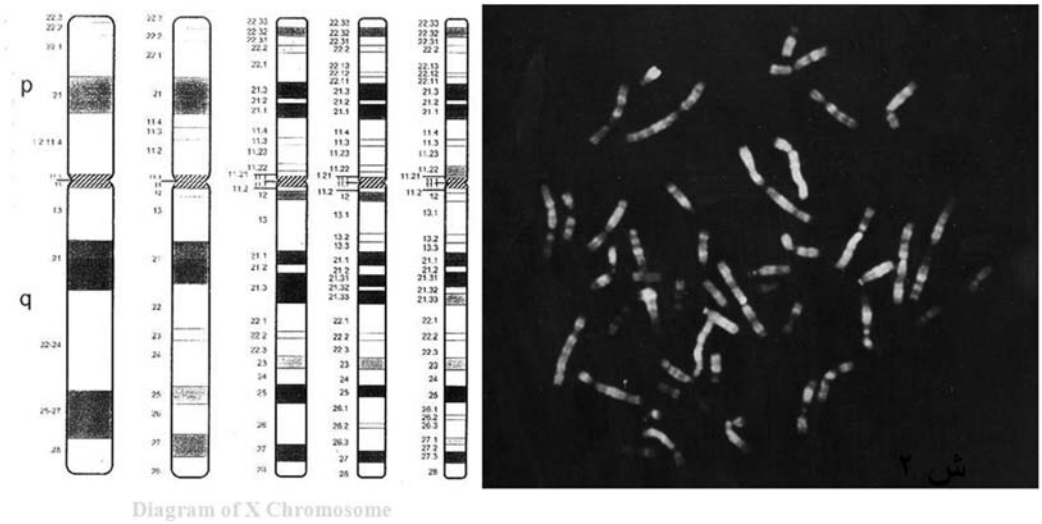


کاریوتایپ رنگ گیمسا به روش کلاسیک (متراکم)
به طوری که مشاهده می شود گروه کروموزوم هایی که از نظر اندازه و شکل تقریباً شبیه می باشند
در گروههای G(21,22), F(19-20), E(17-18), D(13-15), C(6-12), B(3,4) نمی توان آنها را از هم جدا کرد.

شکل ۱

4. Sutton
5. Mc Clintock
6. T.C. Hsu
7. Janet Rowley

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد



در روش نواری فلورسنت F.Banding و همچنین در روش های نواری دیگر مانند R-و G-band کروموزوم ها به صورت قطعات تاریک و روشن رنگ می گیرند و هر کروموزوم دارای نوارها و نوارک های خاص خود می باشد که آنرا از سایر کروموزومها متمایز می نماید.

شکل ۲

سریع این دانش سبب برگزاری همایش‌های متعدد در شهرهای دیگر، از جمله لندن (۱۹۶۳)، شیکاگو (۱۹۶۶) و پاریس (۱۹۷۱)، برای روزآمد کردن مطالب قبلی برگزار شد. در پی گردهم‌آیی ادینبورگ (۱۹۷۵) و کنفرانس ژنتیک انسانی در مکزیکوسیتی (۱۹۷۶) و استکهلم (۱۹۷۷) تصمیم گرفته شد برای ناهنجاریها، نام‌گذاری یکنواختی تدوین شود. این راهنما، با عنوان سیستم بین‌المللی برای نام‌گذاری سیتوژنتیک انسان[8]، در سال ۱۹۸۴، تهیه و در ۱۹۸۵ منتشر شد. ویرایش‌های بعدی این راهنما در سال‌های ۱۹۹۴، ۲۰۰۴ و ۲۰۰۵ به چاپ رسید و آخرین نسخه آن در سال ۲۰۰۹ انتشار یافت.

در نخستین مرحله از رشد دانش سیتوژنتیک، در سال‌های ۱۹۷۰-۱۹۵۶، روش رنگ‌آمیزی کروموزوم‌ها به‌صورت دوشاخه (کروماتید) و توپر ابداع شد. در این روش فقط امکان تعیین تعداد کروموزوم‌ها وجود داشت. در برخی گروه‌ها، مانند گروه‌های B، C، D، E، F و G، امکان تفکیک کروموزوم‌ها به‌طور دقیق میسر نبود. در عمل اشکالاتی در تعیین علت بسیاری از بیماری‌های کروموزومی ناشی از ناهنجاری‌های ساختاری ریز وجود داشت (شکل ۱). لذا نتوانست انتظار و خواست پزشکان را اغناء بخشد.

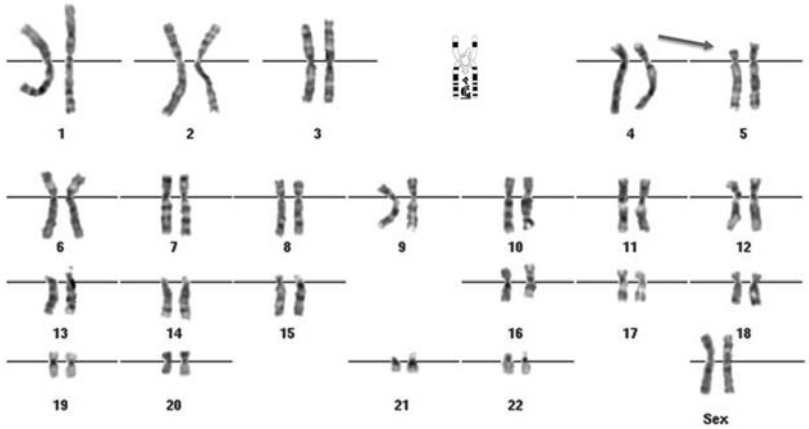
کاسپرسن و همکاران رنگ‌آمیزی با کیناکرین موستارد و سایر ترکیبات آن را برای رنگ‌آمیزی کروموزوم‌ها به‌کار بردند که به‌نام روش نواری Q مشهور است (۱۲). آنها نشان دادند با این روش و با استفاده از پرتو ماوراء بنفش، کروموزوم‌ها به‌صورت نوارهای تاریک و روشن درخشانی رنگ می‌گیرند. رنگ‌پذیری و محل نوارها و هم‌چنین شدت درخشندگی آنها در کروموزوم‌های مختلف با هم متفاوت است، اما برای هر کروموزوم مشخص و تقریباً همیشه ثابت است (شکل ۲).

قسمتی از بازوی بلند کروموزوم Y خاصیت فلوئورسانت شدید دارد و حتی در اینترفاز نیز خصوصیت رنگ‌پذیری و درخشندگی خود را حفظ و به‌صورت نقاط براق در داخل هسته سلول خودنمایی می‌کند. این حالت را جسم Y و یا F می‌نامند و به‌آسانی در سلول‌های مرد دیده می‌شود.

دوران سیتوژنتیک نواری[9]

نوار (بند) قسمتی از کروموزوم است که به‌طور واضح از ناحیه مجاور خود به‌علت رنگ‌پذیری بیشتر یا کمتر متمایز است. نواری که در یک روش رنگ‌آمیزی رنگ تیره به خود می‌گیرد، ممکن است در رنگ‌آمیزی دیگر کاملاً رنگ‌پریده یا بی‌رنگ باشد. کروموزوم‌ها از نوارهای تیره و روشن پیوسته به هم تشکیل شده‌اند و بین آنها فاصله وجود ندارد. هر یک از

8. An International System for Human Cytogenetics Nomenclature
9. Banding



Cri de chat 46,XX,del(5)(p13)

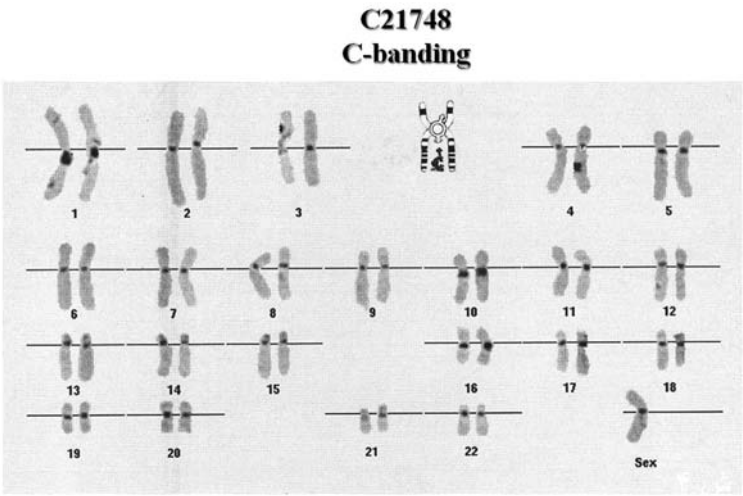
شکل ۳

بازوها به چند ناحیه مشخص تقسیم می‌شوند. این نواحی، از سنترومر به‌طرف انتهای بازو، با خطوط فرضی از یکدیگر جدا و شماره‌گذاری شده‌اند؛ به‌طوری‌که دو ناحیه متصل به سنترومر با شماره یک مشخص شده‌اند که یکی مربوط به بازوی کوتاه و دیگری مربوط به بازوی بلند است. ناحیه بعد شماره ۲ و بعدی ۳ نام دارند. به همین روش، تمام طول کروموزوم در دو جهت شماره‌گذاری می‌شود. هر ناحیه[10] از کروموزوم به چند نوار تقسیم می‌شود. با روش‌های پیشرفته هر نوار خود به چند نوارک (ساب‌بند) تقسیم می‌شود که آنها نیز با همان شیوه شماره‌گذاری می‌شوند. هر یک از نوارک‌ها را نیز ممکن است به قطعات کوچک‌تر تقسیم کنند. برای نشان دادن یک نقطه معین در یک کروموزوم ابتدا شماره کروموزوم سپس علامت اختصاری بازوی آن (p or q)، بعد شماره ناحیه و سپس شماره نوار مورد نظر ذکر می‌شود. برای نمونه ۱q۲۳ نمایانگر سومین نوار ناحیه دوم بازوی بلند کروموزوم شماره ۱ است. با همین روش می‌توان قطعه بسیار کوچکی را در روی کروموزوم معین مشخص کرد؛ مانند Xp۱۱,۲۲ که نشان‌دهنده دومین قطعه از نوارک دوم نوار ناحیه یک بازوی کوتاه کروموزوم X است .

چندی بعد، سیبرایت[11] نشان داد اگر کروموزوم‌ها را پیش از رنگ‌آمیزی با ماده رنگی گیمسا به‌وسیله موادی مانند تریپسین یا اوره که پروتئین‌ها را تجزیه می‌کنند، آماده کنیم، کروموزوم‌ها به‌صورت نوارهای تاریک و روشن شبیه نوار Q رنگ می‌گیرد. این روش رنگ‌آمیزی که به روش نواری گیمسا یا G مشهور است، ثابت است و تهیه عکس از آن ساده‌تر از روش نواری Q است. روش نواری G در بسیاری از آزمایشگاه‌های سیتوژنتیک روش انتخابی رنگ‌آمیزی است (شکل شماره ۳). علاوه بر این دو روش رنگ‌آمیزی نواری، روش‌های نواری دیگری مانند روش‌های R، C و T نیز وجود دارد. در روش نواری معکوس یا R، با استفاده از روش‌های خاص و رنگ‌آمیزی با گیمسا، برعکس نوارهای G، نوارهای تیره به رنگ روشن و نواحی روشن به رنگ تیره در می‌آید و در حقیقت منظره‌ای عکس روش نواری G دیده می‌شود. در رنگ‌آمیزی‌های نواری R، G و Q تمام کروموزوم به‌طور متفاوت رنگ می‌گیرد. در رنگ‌آمیزی‌های موضعی، مانند روش‌های نواری C (سنترومریک) یا T (تلومریک)، فقط نواحی خاص (به‌ترتیب سنترومر و تلومر) رنگ می‌گیرند (شکل شماره ۴). در روش NOR (نواحی سازمان‌دهنده هسته)[12] نواحی سازنده هسته رنگ می‌گیرند. استفاده از روش نواری در مقایسه با روش سنتی اولیه که در آنها کروموزوم‌ها به‌صورت دو رشته توپر و یکنواخت در می‌آیند، امتیازات بسیاری دارد:

الف) در روش نواری هریک از کروموزوم‌ها نما و نقشه خاصی دارد که تقریباً ثابت و به‌خوبی از کروموزوم‌های هم‌گروه خود متمایز می‌شود. این امتیاز در تعیین کروموزوم‌های گروه B (۴ و ۵)، گروه C (۶ تا ۱۲)،

10. Region
11. Seabright
12. Nucleus Organizing Regions



نمونه ای از C-Band که سانترومر (نواحی هتروکروماتین) را رنگ می نماید.

شکل ۴

گروه (۱۳ تا ۱۵)، گروه E (۱۷ و ۱۸)، گروه F (۱۹ و ۲۰) و گروه G (۲۱ و ۲۲) بسیار کمک‌کننده است (۱۴).

ب) در روش نواری کمبود، افزایش یا جابه‌جایی‌ها به‌آسانی قابل شناسایی هستند و می‌توان اندازه و محل جابه‌جایی را دقیقاً مشخص کرد و بیماری‌هایی که نتیجه کمبود قطعه ریزی از کروموزوم هستند، مانند نشانگان‌های پرادر- ویلی، آنژلمن، دی‌ژرژ، ویلیامز و غیره، را با تکنیک‌های عالی و با تفرق بالا می‌توان شناسایی کرد (۱۵).

ج) در جابه‌جایی‌ها می‌توان مشخص کرد چه مقدار از کروموزوم A با چه قطعه‌ای از کروموزوم B تبادل یافته‌اند. هم‌چنین مشخص می‌شود در گامتوژنز چه پدیده‌ای اتفاق افتاده و چه گامت‌هایی در حال تعادل و کدام در حالت عدم تعادل هستند.

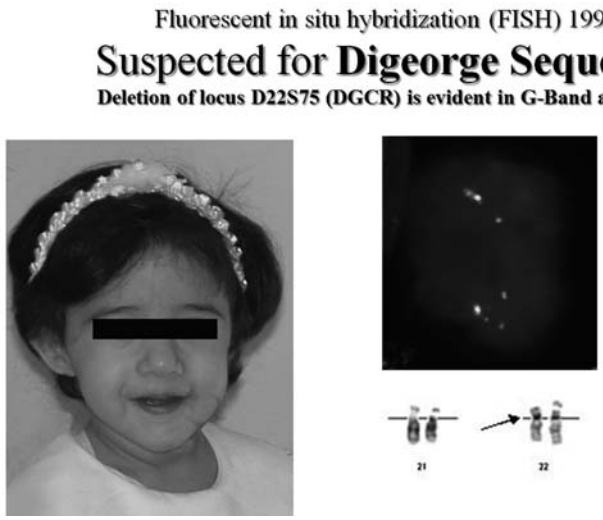
سیتوژنتیک ملکولی

در سال ۱۹۸۰، با به‌کارگیری ژنتیک ملکولی، پیشرفت عمده‌ای در دانش سیتوژنتیک پدید آمد. از سال ۱۹۶۹، هیبریدیزاسیون کروموزوم‌ها با مواد رادیواکتیو کاربرد بالینی داشت. در این زمان هیبریدیزاسیون کروموزوم‌ها با مواد فلوئورسنت (روش FISH)[۱۳] تکامل یافت و به روند تشخیص و تحقیق سرعت بیشتری داد. این روش بسیار عملی، مطمئن و کاربردی است. پیشرفت‌های بعدی با دست‌کاری بسیار ظریف، موجب جدا کردن قطعات ریز کروموزوم[۱۴] و کلون کردن آنها شد. کاربرد روش FISH و تشریح میکروسکپی در تشخیص بیماری‌های خونی و سرطان‌ها و درمان آنها نقش بسیار مهمی دارد. هم‌چنین استفاده از روش FISH در تشخیص پیش از تولد بسیار ارزنده است. با این روش به‌آسانی می‌توان ناهنجاری‌های تعداد و ساختار کروموزوم‌ها و منشأ آنها را در جنین مشخص کرد. روش FISH در نمونه‌های مغز استخوان، خون محیطی، بلوک پارافینی سلول‌ها در مرحله اینترفاز، بدون کشت، به‌کار می‌رود. امروزه این روش در تشخیص جنسیت جنین، تریزومی‌های شایع مانند ۲۱، ۱۸و ۱۳ و کروموزوم‌های جنسی X و Y با استفاده از ردیاب (پروب)های سه کروموزوم ۲۱، ۱۸ و ۱۳) و ردیاب ۵ شامل سه کروموزوم اتوزوم (۲۱، ۱۸ و ۱۳) ودو کروموزوم جنسی X و Y کاربرد زیادی دارند .

روش NOR یک روش رنگ‌آمیزی است که ماهواره‌ها و دنباله کروموزوم آکروسنتریک و هم‌چنین ناحیه نزدیک سانترومر را مشخص می‌کند. با روش تفکیک عالی، کروموزوم‌ها در مرحله پروفاز یا پیش از متافاز و پیش از آنکه کروماتیدها کاملاً متراکم شوند، بررسی می‌شوند. در این مرحله کروموزوم‌ها بلندتر و کشیده‌ترند و نوارها را بهتر می‌توان از هم تمیز داد

امروزه FISH هم در بررسی کروموزوم‌ها و ناهنجاری‌های آن در

13. Florescent in Situ Hybridization
14. Microdisection



شکل ۵

کشت بافت و هم در مرحله انترفاز بدون کشت بافت کاربرد فراوان و ارزشمندی دارد. یکی ازکاربردهای FISH در بررسی ریز حذفی‌ها[۱۵] است که از این نظر هم از تشخیص و هم از نظر تایید یافته‌های سیتوژنتیک با روش نواری ارزش فراوان دارد (شکل شماره ۵).

پیاده کردن آخرین تکنیک روز

با وجود امکانات انجام سیتوژنتیک نواری و FISH چون در برخی موارد که روش‌های موجود جوابگو نبود به‌ویژه در مواردی که نسج مرده و نکروز می‌بود مانند نمونه‌های کورتاژ آبستنی‌های فراموش شده، مرگ داخل زهدان، نسوج نکروز سرطانی که موارد زیادی بدین مرکز ارجاع می‌شود و از نظر بالینی بررسی ناهنجاریهای کروموزومی اهمیت زیاد می‌داشت، برای رفع کمبود بایستی از آخرین روش روز مقایسه ژنوم با روش هیبریداسیون (aCGH)[۱۶] استفاده نمود. لذا با اعزام یکی از همکاران به انستیتو ماکس پلانک برلین آلمان و سرمایه گزاری زیاد این امکانات فراهم آمده و از اول سال ۱۳۹۰ انجام aCGH شروع و تاکنون بیش از ۳۰۰ مورد آزمایش انجام و نتایج بسیار خوب و امیدوار کننده است.

aCGH چیست و چگونه انجام می‌گیرد؟ (۱۷و۱۶)

مبنای این آزمایش مقایسه و تطبیق DNA مورد نظر با DNA کنترل که شامل اکثریت ژن‌های شناخته شده و نواحی که تاکنون شناسایی نشده اند بر روی یک اسلاید می‌باشد.

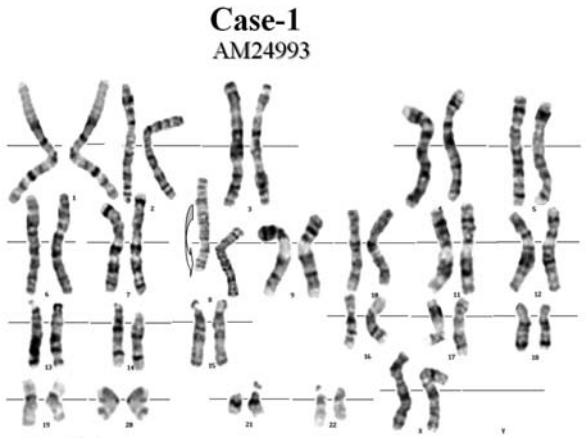
روش انجام آزمایش aCGH: DNA شخص مورد نظر بر روی اسلایدی که قبلا[2] سطح آن را با DNA طبیعی آرایش داده اند، قرار می‌دهیم. سپس DNA طبیعی را با رنگ فلورسانت (قرمز) و DNA مورد نظر را با رنگ دیگری (سبز) فلورسانت آغشته می‌نماییم. زیر میکروسکوپ فلورسانت دو رنگ متفاوت در موارد سالم بخوبی روی هم قرار می‌گیرد، چنانچه اشکال: کمبود یا افزایش وجود داشته باشد، تغییرات بخوبی مشاهده می‌شود. با استفاده از این روش تعداد کپی‌های تغییر یافته در معیار ۰,۵–۱,۰mb DNA قابل تشخیص می‌باشد.

امروزه CGH با وضوح بالا (HR-CGH)[۱۷] قادر به تشخیص ۲۰۰–۲۰ bp هم در دسترس می‌باشد. این تکنیک قادر است تغییرات کروموزومی را در موارد زیر:

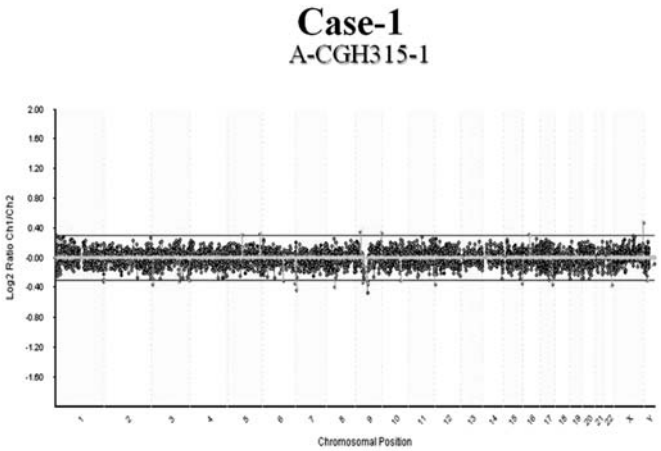
ریز حذفی: افزایش[۱۸] و تغییرات حاصل در سرطانها و ناهنجاری‌های مادر زادی را مشخص می‌نماید ولی قادر به تشخیص پلی پلوئیدی و تغییرات متعادل کروموزومی نمی باشد.

به علت پیچیدگی این روش، قطعات بزرگ را نمی توان بررسی نمود. همچنین در مواردی که نمونه حاوی سلولهای مختلف باشد قادر به تعیین تعداد کپی غیرطبیعی نمی باشیم ولی این اتفاق عملا[2] در کارهای روزانه بندرت پیش می‌آید.

15. Microdeletions
16. Array Comparative Genomic Hybridization
17. High Resolution CGH
18. Duplication
19. Polar body



شکل ۶



شکل ۷

در سپتامبر ۲۰۰۹ اولین نوزاد (اولیویه) که سلامت او از طریق CGH جسم قطبی[19] تخمک مادر او تایید شده بود، در انگلستان متولد شد. مادر ۴۱ ساله با سابقه ۱۳ بار آبستنی ناکام از طریقIVF، از هشت جنین مورد آزمایش aCGH این خانم فقط دو مورد آن طبیعی بود که یکی از آن دو منجر به تولد اولیویه شد (۱).

علاوه بر کاربرد در سرطان در بچه‌ها به ویژه برای تعیین اختلالات ژنومیک بسیار مفید است. در موارد دیس مورفیسم تاخیر رشد MR، Autism و PGD در کاشت جنین و پیش گیری از سقطهای خود بخود بسیار کارآیی دارد. در مطالعه پایگاهی (پیلوت) با مرکز باروری و ناباروری اصفهان نتایج بسیار جالبی بدست آورده ایم.

محدودیت‌ها: این روش قادر است کمبودها، افزایش تعداد کپی‌ها را تعیین کند. بر این اساس تعبیه شده است که بتواند در اختلالات ژنومیک کمبود یا افزایش که بین Mb ۲- ۰/۵ طول دارد تشخیص دهد.

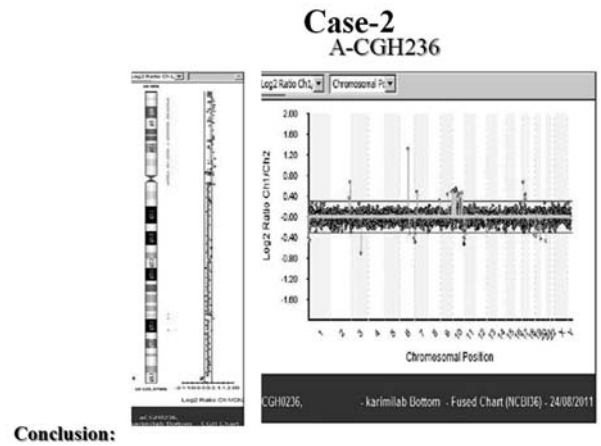
چون در aCGH/ CGH مقایسه با DNA نرمال به عمل می‌آید، لذا در پلی‌پلوتیدی، تریپلوئیدی و جابجایی‌های متعادل[20] کارآیی ندارد. امتیاز عمده این روش در مقایسه با سایر روش‌های سیتوژنتیک و مولکولار سیتوژنتیک این است که در این آزمایش **ضرورتی بر اینکه بافت و سلول زنده قابل کشت و رشد باشد، نیست** زیرا در این روش از مجموعه DNA بیمار که مجموعه ای استوار و مقاوم و در زمان کوتاه فساد ناپذیر است، استفاده می‌شود و در عمل بسیاری از مشکلات قبلی را ندارد و در برخی موارد کارآیی آن بسیار ارزنده و مفید می‌باشد.

به منظور مقایسه روش‌های مختلف سیتوژنتیک و کارآیی و کاربرد aCGH دو مورد از شرح حال و آزمایشات انجام شده و نتایج آن گزارش می‌شود.

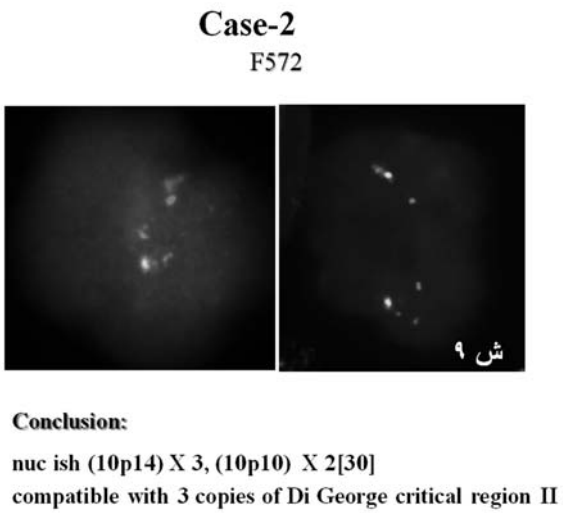
مورد اول خانم باردار ۳۸ ساله به علت سن بالا و بالا بودن خطر ابتلاء جنین به ناهنجاریهای کروموزومی، آمنیوسنتز انجام شد. در بررسی کشت سلولهای مایع آمنیونAm ۲۴۹۹۳. کاریوتایپ جنین اینورشن (برخوردگی) کروموزوم شماره ۸ (شکل۶)، XX,per inv,۴۶(۸) (q۲۴,۲ p۲۳,۲) را مشخص نمود. به منظور تعیین منشاء اینورشن از مادر و پدر جنین کاریوتایپ G.band انجام شد. پدر و مادر هر دو طبیعی و در نتیجه اینورشن حاصل در جنین ابتدایی de novo و احتمال اینکه در اثر اینورشن کمبود یا افزایش در DNA ژنوم جنین پیش آمده باشد مطرح گردید.

برای اطمینان از سلامت جنین از DNA نمونه سلولهای آمنیون، aCGH انجام شد ولی هیچگونه عدم تعادل در ژنوم جنین در کروموزوم ۸ مشاهده نگردید (شکل ۷) و حاملگی به سیر طبیعی خود ادامه می‌دهد.

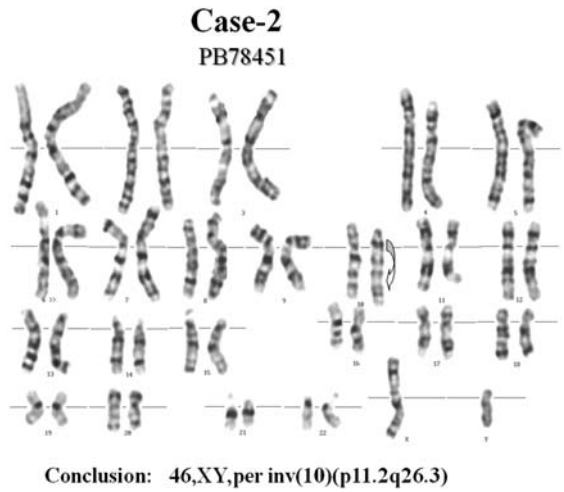
20. Balanced translocation



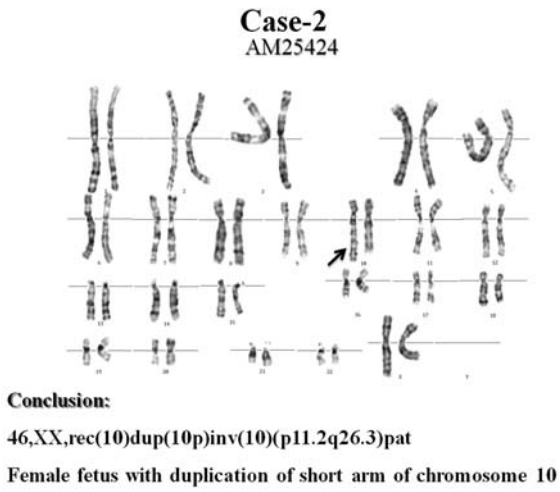
شکل ۸



شکل ۹



شکل ۱۰



شکل ۱۱

مورد دوم

از دختر بچه ۵ ساله به علت عقب افتادگی ذهنی آزمایش aCGH ۲۳۶بر روی خون محیطی انجام گرفت دوپلیکاسیون بازوی کوتاه و کمبود بازوی بلند کروموزوم ده را مشخص نمود (شکل شماره۸).

از مادر کودک فوق به منظور اطمینان از سلامت جنین (آبستنی دوم)، آمنیوسنتز انجام شد. در کشت سلولهای مایع آمنیون ایشان با استفاده از FISH، تریزومی بازوی کوتاه ۱۰p مشخص گردید (شکل شماره۹).

به منظور تعیین علت ناهنجاریهای حاصل در دو فرزند از والدین کاریوتایپ با استفاده از روش نواری گیمسا G-band به عمل آمد و نشان داد مادر سالم ولی پدر مبتلا به اینورشن پری سانتریک بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۱۰ می‌باشد (شکل۱۰).

در بررسی مایع آمنیون تریزومی بازوی کوتاه و اینورشن بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۱۰ (شکل شماره ۱۱) مشخص گردید.

Pb. 78950 46,XY,per inv(10)(p11.2 q26.3)

Am. 25424 46,XY,rec(10)dup inv(10)(p11.2 q26.3)

با توجه به یافته‌های فوق و ابتلاء جنین، ختم حاملگی انجام شد.

References

1. Wikipedia free dictionary history of cytogenetics
2. Avery OT, Maclead CM, Mc Carty M. Studies on the chemical nature substance including transformation in pnemococcal type. J Exp Med 1944;79:137-58.
3. Levitsky GA. Morphology of the chromosomes and the notion of karyotype in the systematics. Bull Appl Gen Plant Breeding 1931;27:187-240.
4. Painter TS. The sex chromosomes of the monkeys. Science 1922;56:286-7.
5. McClintock B. Induction of instability at selected loci in maize. Genetics 1953;38: 597-9.
6. Hsu TC, Wagner RP. An illumination. Am J Med Gene 59(3):326-8.
7. TJio J, Levan A. The chromosome number of man. Hereditas 1956;42:1-6.
8. Lejeum J, Gautier M, and Turpin R.E. Etude des chromosomes somatiques de neuf enfants mongoliens. Comptes rendus de LAcademie des sciences. Serie III: Sciences de la vie, Paris 1959;248:1721-2.
9. Pateau K, Smith LW, Therman E, Inhorn SL, Wagner HP: Multiple Congenital anomaly caused by an extra out some. Lancet 1960;1:790-3.
10. Edwards JH, Hamerton DG, Cameron AH, Crosse VM, Wolf OM. A new trisomic syndrome. Lancet 1960;1:787-90.
11. A proposed standard system of nomenclature of human mitotic chromosomes. Lancet 1960;1:1063-5.
12. Casperson T, Lomakka G, Zech L. The Fluorescence patterns of the human metaphase chromosomes distinguishing characters and variability. Hereditas 1971;67:89-102. Exp cell Res, 1968, 49: 219-222
13. ISCN 2005. An International system for human cytogenetic nomenclature (cytogenetic & genome research) S. Karger AG; 2005.p.125
14. Zangeneh M: International system for Human Cytogenetics Nomenclature genetics in the 3rd Millennium 2004, Vol 2, No.1&2, 200-294
15. Kariminejad R., Moshtagh A, Miraftabi N, Zandi F, Sabet-Kasaei N, Refghi H, and Kariminejad MH: Application of cytomolecular tests in microdeletion diseases part 2, Genetics in the 3rd Millennium 2010, 7: No.4, 1877-83
16. Wikipedia free encyclopedia: Array comparative Genomic hybridization
17. Daniel Pinkel & Donna Albertson: Array comparative genomic hybridization and its application in cancer, Nature Genetics 37, 511-517 (2005).
18. Kariminejad MH, Moshtagh A, Miraftabi N, Zandi F, Sabet Kassaei N, Refghi H, and Kariminejad R: Application of molecular genetics in microdeletion part 3, report the results of 21 suspected patients for Williams syndrome, Genetics in the 3rd Millennium 2010, Vol 8. No.2, 2019-2022