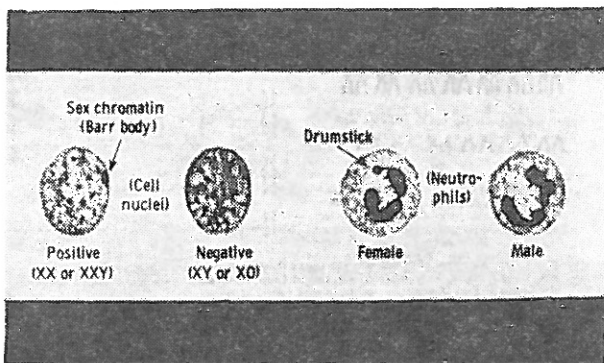


بیماریهای کروموزومی در انسان (۳) متدهای مطالعه آنومالیهای کروموزومی

دکتر پرتو رضائی *

و گاه بصورت عدد ۸ درمیآید. این توده کروماتینی از نوکلئوسهای هسته به توسط خاصیت رنگ پذیری مخصوص تشخیص داده میشود. شکل (۲۰)



شکل ۲۰

وجود کروماتین جنسی در سلولهای مونث و کمیابی آنها در سلولهای موجودات مذکور از ابتدا این نکته را مسلم میسازد که این توده با وجود دو کروموزوم X مرتبط است.

مبداء کروماتین جنسی :

Barr ابتدا فکر میکرد که کروماتین جنسی از هردو کروموزوم X بطور مساوی سرچشمه میگیرد ولی نظریه اخیر را میتوان باسانی با نبودن کروماتین جنسی در مورد مرد و یا مبتلایان به سندرم ترنر (XO) که هرکدام یک کروموزوم X دارند رد نمود زیرا بااین نظریه میبایستی این افراد کروماتین جنسی با حجم نصف افراد XX داشته باشند و چنانچه میدانیم اینطور نیست.

Lyon Hypothesis : لیون عقیده دارد که از دو کروموزوم X فقط یکی فعال است و کروموزوم یا

چندین متد آزمایشگاهی جهت مطالعه بیماریهای کروماتینی که دچار آنومالیهای کروموزومی ثابت و مشکوک میباشند قابل اجرا است :

A - مطالعه سلولها جهت یافتن کروماتین جنسی یا

Barr Body در هسته آنها

B - مطالعه نتروفیل های رسیده جهت یافتن

Drum Stick در آنها .

C - شمارش کروموزومها در سلول (تهیه

کاریوتایپ) .

D - مطالعه کروموزومها با ایجاد فلورسانس در

آنها با بکاربردن Quinacrine Mustard
Amniocentesis - E

دو روش اول آسان و ارزان است ، روش سوم گران تمام میشود و فقط توسط افرادی که خوب آموزش دیده اند و در مراکز طبی مجهز قابل اجراست . روش چهارم کاملاً جدید بوده و سرعت میتوان با آن کروموزوم Y را شناسائی کرد . روش آخر در زنان حامله و جهت بررسی وضع جنین و تشخیص بیماریهای آن مورد استفاده قرار میگیرد .

A - کروماتین جنسی

(Nuclear Sex, Nuclear Chromatin, Barr Bodies, Sex Chromatin)

در سال ۱۹۴۹ برای اولین مرتبه Barr و همکارانش

متوجه شدند که هسته یاخته های عصبی گربه ماده دارای یک توده کروماتینی هستند که سلولهای گربه نر فاقد آن میباشند.

بعدها در انسان نیز این موضوع را به ثبوت رساندند . این توده کروماتین پیکری است بیضی شکل و Planoconvex

با دیامتر تقریبی اموکه در نزدیک و یا چسبیده بسطح داخلی غشاء هسته سلول قرار گرفته است . این توده گاه از دو قسمت

	Sex phenotype	Barr bodies (maximum number per cell)	Sex-chromosome constitution
Normal male.....	Male		XY
Testicular feminization syndrome	Female (with testes)		XY
Double Y (or XYY) male.....	Male		XYY
Turner syndrome.....	Female		XO
Normal female.....	Female		XX
Klinefelter syndrome.....	Male		XXY
Klinefelter syndrome.....	Male		XXYY
Triple X syndrome	Female		XXX
Triple X-Y syndrome.....	Male		XXXY
Tetra X syndrome	Female		XXXX
Tetra X-Y syndrome.....	Male		XXXXY
Penta X syndrome.....	Female		XXXXX

شکل (۴۱)

ولی استثنائی که تاکنون ثابت نشده در بیماری است که فقط يك کروموزوم X دارد ولی ضمناً بار بادی نیز دارد. این بیمار را Chu, Grumbach و Morishima در سال ۱۹۶۰ شرح داده‌اند این بیمار از نظر وجود موزائیسیم کاملاً مطالعه شده است. این دانشمندان معتقدند که شاید این توده کروماتینی قسمت هتروپیکنوتیک کروموزوم منفرد X باشد.

مهمترین منابعی که بیشتر جهت مطالعه سکس کروماتین از آنها استفاده میشود. عبارتند از: سلولهای دیسکوآمده دهان، سلولهای واژن و بالاخره مایع آمنیوتیک.

دیروکال اسمیر در بیش از ۳۰٪ سلولهای زنان و دیروژینال اسمیر در بیش از ۶۰٪ از سلولها جسم بار دیده میشود. در تعداد کمی از مردان نیز توده‌ای شبیه به سکس کروماتین دیده میشود که تعداد آنها از ۱-۳٪ تجاوز نمیکند و از نظر اندازه کوچکتر از اشکال تی‌پیک که در زنها دیده میشود میباشد و فقط در تعداد محدودی از سلولها دیده میشوند.

سکس کروماتین را میتوان در سلولهای تروفوبلاست از روز ۱۲ حاملگی و درخود جنین از روز ۱۶ حاملگی به بعد مطالعه نمود.

نکته جالب توجه اینکه نسبت درصد یاخته های کروماتین مثبت تحت اثر عواملی تغییر میکنند. مثلاً کورتیکوتروپین ها، کورتیکواستروئیدها، تستوسترون و بالاخره پروژسترون باعث کوچک شدن آن میگردد درحالیکه دی‌اتیل استیل بسترول باعث بزرگی آن میگردد.

کروموزومهای X اضافی بصورت زائده و یا توده کروماتینی رنگ پذیر که از نظر توارث غیر فعال میباشد درمیآیند و بصورت جسم بار نمایان میگردد که گاه از پدر و گاه از مادر حاصل میگردد. این نظریه را پدیده های مختلفی پشتیبانی میکند:

اولاً: صفات وابسته به جنس (صفات وابسته به کروموزوم X) از نظر کمیت در زنان و مردان سالم یکسان است.

مثلاً فعالیت آنزیم گلوکز ۶ فسفات دهیدروژناز (G₆PD) که وابسته به کروموزوم X است در زن و مرد همانند یکدیگر است. در حالیکه اگر هر دو کروموزوم در زن فعال بودند انتظار میرفت که فعالیت آنزیم در زنان دوبرابر مردان باشد عدم دخالت کروموزوم Y در این مورد با توجه باین نکته به ثبوت میرسد که فعالیت آنزیم مورد بحث در بیماران مبتلا به سندرم ترنر که فقط يك کروموزوم X دارند (XO) همانند زنان و مردان سالم است.

ثانیاً: نایابی توده کروماتین در سلولهای جنسی (ژرمینال) زنان سالم است که فقط نیمی از کروموزومهای سلول کامل یعنی ۲۲ اتوزوم و يك X در آنها وجود دارد.

ثالثاً: در افرادی که بیش از دو کروموزوم X دارند، تعداد توده های کروماتین همیشه یکی کمتر از تعداد کروموزومهای X است و بدین ترتیب مسلم بنظر میرسد که باستثناء يك X بقیه کروموزومهای جنسی مونث بصورت غیرفعال و رنگ پذیر درمیآیند.

اخیراً با استفاده از اسیدهای آمینه رادیوآکتیو ثابت شده است که از میان دو کروموزوم X يك موجود مونث فقط یکی قادر بساختن اسید ریبونوکلیک پیامبر Messenger RNA است و کروموزومی که بصورت غیر فعال در میآید از این خاصیت بریست.

در سال ۱۹۶۲ Grumbach, Morishima و Taylor با تکنیک های اتورادیوگرافی نشان دادند که تاخیری در سنتز DNA در یکی از کروموزومهای X در مرحله اینترفاز تقسیم سلولی بوجود میآید و این باعث میشود که دو کروموزوم X شبیه بیکدیگر نباشند و با مطالعات اخیر ثابت شده که همان کروموزوم که سنتز DNA در آن وقفه دارد بصورت پیکنوتیک و متراکم درآمده و Barr Body را تشکیل میدهد. با مطالب فوق در غیر فعال بودن توده بار از نظر توارث جای تردید باقی نمیماند. چنانکه قبلاً ذکر نمودیم معمولاً تعداد توده های بار، یکی کمتر از تعداد کروموزومهای X است مثلاً زنان سالم (XX) يك بار بادی دارند در حالیکه مردان (XY) و مبتلایان به سندرم ترنر (XO) فاقد آن میباشد و کسی که XXX است دو جسم بار دارد شکل (۲۱).

پیکر بار است و در مردان سالم در حدود ۴٪ در مواردیکه در حدود ۱۰٪ یاخته ها کروماتین مثبت باشند بهتر است که رنگ آمیزی را تکرار نموده و با روش رنگ آمیزی دیگری نتیجه را مقایسه نمایم.

در مواردیکه نسبت درصد سلولهای کروماتین مثبت که از محلهای مختلف برداشته شد، اختلافاتی از نظر شمارش نشان دهند دلیل بر موزائیسیم است.

ب - واژینال اسمیر - فروتی بهتر است از دیوارم های طرفی مهبل تهیه شود و تا آنجا که ممکن است باید از آلودگی لام به ترشحات مخاطی و لزج دهانه رحم و میان دوره اجتناب کرد. این روش خصوصاً در بیماران که آمنوره اولیه و Testicular Feminisation و یا هیپرپلازی مادرزادی غده فوق کلیه دارند با ارزش است.

بار بادی در یاخته های مخاطی مهبل معمولاً بزرگتر از یاخته های مخاطی دهان است و بیشتر از ۶۰٪ سلولها شامل آن هستند.

ج - مایع آمینوتیک، گاه جهت تعیین جنس جنین قبل از تولد از فروتی مایع آمینوتیک استفاده میکردند ولی روش صحیحی چنانچه بعداً خواهیم دید در تعیین جنس نیست.

B - روش مطالعه Drum Stick

در خون محیطی کروماتین جنسی را در ۱-۳٪ گویچه های سفید چند هسته ای بنام زائده هسته ای که شبیه چوب طبل است میتوان مشاهده کرد. هرچه تعداد گلبولهای سفید چند هسته ای بیشتر باشد بهتر است و بدین منظور اسمیر خون بایستی غلیظ باشد رنگ آمیزی خون شناسی معمولی برای تجسس زائده هسته ای رضایت بخش است ولی روش رنگ آمیزی با گیمسا و روشهای دیگر ارجح است. برای مشاهده زائده هسته ای باید حداقل ۲۰۰ الی ۵۰۰ گویچه سفید چند هسته ای بررسی شود. (شکل ۲۰)

تفسیر آزمایش کروماتین جنسی

این حقیقت را بایستی در نظر گرفت که تشخیص جنسیت نوعی وارثی بطور واقعی بوسیله آزمایش کروماتین جنسی غیر ممکن است و حتماً باید با کاریوتیپ کروموزومی تأیید گردد.

وجود بار بادی هیچگاه دلیل زن بودن نمیشاند بلکه میتوان گفت که جواب بررسی کروماتین جنسی مثبت است یا منفی چنانچه در مبتلایان به سندرم ترنر کروماتین جنسی منفی ولی حالت خنثی دارند و در افراد مبتلا به سندرم کلاین فلتز (XXY) کروماتین جنسی مثبت ولی مرد هستند به بیماری که بار بادی دارند کروماتین مثبت و آنها که فاقد آن هستند کروماتین منفی گویند.

C - شمارش کروموزومهای سلول

Chromosomal Analysis

تجویز آنتی بیوتیک ها و سولفامیدها اندازه جسم بار را کوچک مینمایند.

در نوزادان تا هفته اول که تحت تاثیر هورمونهای مادری قرار گرفته اند تعیین کروماتین جنسی چندان ارزشی ندارد.

در سال ۱۹۴۵ Davidson و Smith مشاهده نمودند که در اسمیر رنگ شده خون محیطی بعضی از زنان در کنار هسته نو تروفیل های بالغ زائده گرد و جامدی که بوسیله رشته کروماتین باریکی به یکی از لوب های هسته نترفیل ها چسبیده است وجود دارد که شبیه بچوب طبل است از این نظر آنرا Drum Stick نامیدند بعداً اسامی زائده هسته ای یا Neutrophilic Sex با آنها اطلاق گردید. این زائده ها تقریباً در ۱-۳٪ گویچه های سفید چند هسته ای خون محیطی زنان دیده میشود، و دیامتر آنها در حدود ۱٫۵ میکرون است و معمولاً با درشت نمائی ۹۰ قابل نمایش است و برای پیدا کردن آنها لابل باید ۲۰۰ تروفیل را گشت ناگفته نماند که در مردها تاکنون دیده نشده است (شکل ۲۰)

نقش زائده هسته ای هنوز مورد گفتگو است ولی وجود آن نشانه وجود دو کروموزوم X است مگر آنکه خلاف آن ثابت شود و تاکنون نتوانسته اند رابطه خاصی بین زائده هسته ای و کروماتین هسته ای پیدا کنند.

روش های مطالعه کروماتین جنسی:

بررسی کروماتین جنسی مخصوصاً در کودکانی که ناهنجاری تناسلی دارند و دریچه هائی که رشد کافی نداشته و یا اختلالاتی در غدد تناسلی وروانی دارند و یا در عدم رشد دستگاه تناسلی پسران (سندرم کلاین فلتز) حائز اهمیت است گرچه میتوان این آزمایش را روی یاخته های مختلفی انجام داد ولی متداولترین همه آزمایشها آزمایش یاخته های پوششی مخاط دهان است.

الف - بوکال اسمیر - ابتداء بیمار چند بار دهان خود را با سرم فیزیولوژیک و بعداً با آب میشوید، سپس بایک اسپاتول یا تیغه چوبی از سطح داخلی دهان فروتی تهیه نموده و بر روی لام بطور یکنواخت میگسترانیم. بهتر است چندین لام تهیه کنیم که تا آنجا که ممکن است با کتریها بمقدار کمتر و بعکس سلولهای تازه تر و بیشتر روی لام گسترده شود.

بعد از ثبوت لامها توسط الکل ۹۵٪ و یا مخلوط مساوی از الکل ۹۵٪ و اتر آنها را بطریق پاپانیکالائو رنگ آمیزی کرده و بعد از گزاردن قطره ای روغن روی لام با ابژکسیون ایمرسیون مطالعه میکنیم. پیکر بار بشکل توده کروماتین در مجاورت غشاء هسته قرار دارد که منظم و وزیکولر و گاهی پخش شده است که تشخیص آن خالی از اشکال نیست و در یاخته های مختلف باندازه های متفاوت میباشد.

در زنان معمولاً بیش از ۲۰٪ یاخته هایشان دارای

اندیکاسیونهای فعلی جهت تهیه کاریوتایپ بقرار زیر است :

- ۱ - بیمارانیکه بعلت تریزومی اتوزومها و یاسندرم Deletion دچار آنومالیهای پابرجا میباشند .
- ۲ - والدین بیمار دچار به تریزومی چنانچه سن مادر کمتر از ۳۰ سال است و یا اگر یکی دیگر از اولادان آنها همان علائم را نشان میدهد (Sebling) .
- ۳ - والدین تمام اطفالی که دچار سندرم Down میباشند معلوم شده ترانسکوکیشن ویا تیپ موازئیک هستند .
- ۴ - بیمارانیکه Barr Body ویا Drum Stick غیر طبیعی دارند .
- ۵ - بچههایی که از نظر جسمی وروحي شدیداً عقب مانده هستند بخصوص وقتی این عارضه توام با آنومالیهایی نیز باشد .
- ۶ - تمام موارد Intersex
- ۷ - تمام خانمهاییکه سندرم ترنر مشخص دارند خواه کروماتین مثبت وخواه منفی .
- ۸ - تمام آقایانی که دچار سندرم کلاین فتنر هستند چه کروماتین پوزیٹیف و چه نگاتیف .
- ۹ - مردانیکه قد آنها از ۶ پا بیشتر است و اختلال رفتار نیز دارند .

D - تست Quinacrin Mustard

کیناکرین ماستارد مادهای است با خاصیت ایجاد فلورسانس. این ماده به DNA کروموزومها میچسبد وایجاد فلورسانس میکند. هر کروموزومی خاصیت فلورسانسی بخصوص دارد که میتوان با مطالعه آنها باروشهای فتوالکتریک حساس به هویت کروموزوم فلورسانس شده پی برد. درحال حاضر ازاین روش بیشتر برای شناسائی کروموزوم Y استفاده میشود ودرحقیقت اولین Screaming Test است که برای شناسائی کروموزوم Y پیدا شده است. ازاین روش میتوان برای شناسائی سایر کروموزومها نیز استفاده نمود.

E - Amniocentesis

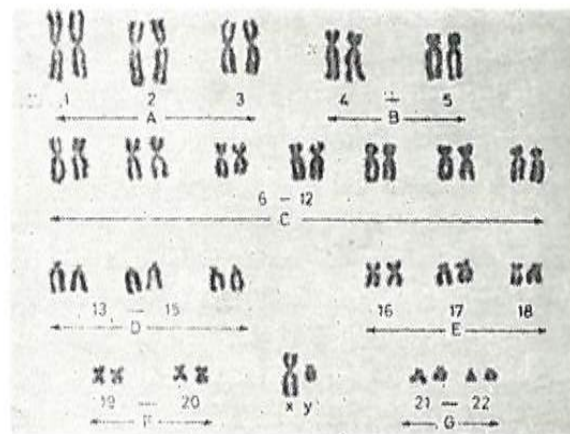
تشخیص داخل رحمی از اختلالات کروموزومی و ژنتیک جنین بوسیله مطالعات بیوشیمیائی و سیتوژنتیک مایع آمنیوتیک و ساولهی آن که از طریق شکم و بعد از هفته ۱۵ حاملگی گرفته میشود امکان پذیر است. این عمل را آمنیوسنتز گویند. اندیکاسیونهای آمنیوتیک سنتز بقرار زیر است :

- ۱ - کاریزهای ترانسلوکیشن برای مثال سندرم دان حاصل از ترانسلوکیشن ۱۵و۲۱ .
- ۲ - مادرانی که سن آنها بیشتر از ۴۰ سال است (سندرم دان در بچه هایی که از مادران سن متولد میشوند بیشتر است) .

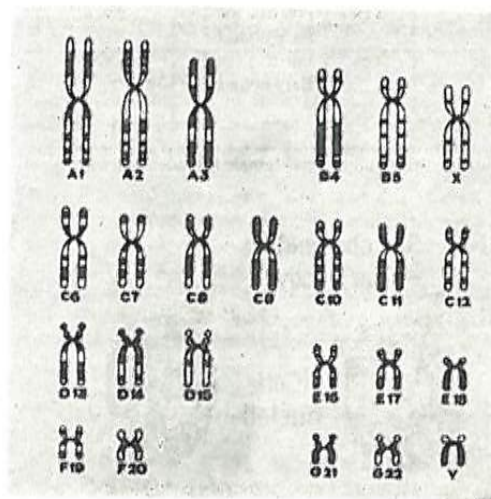
بافتهای بیوپسی شده را که جهت مطالعات کروموزومی فرستاده اند ابتدا باید کشت داد و بعداً بطوری که قبلاً ذکر شد بوسیله داروهای شیمیائی در مرحله متافاز تقسیم سلولی متوقف نمود و به شمارش کروموزومها پرداخت. نمونه های ارسالی اغلب از خون محیطی مغز استخوان پوست و بیضه ها برداشته میشود.

نتیجه این مطالعات تهیه کاریوتیپ وایدیوگرام است. بعد از تهیه کشت از نمونه های ارسالی جهت شناخت کروموزومها باید آنها را رنگ آمیزی نمود. اخیراً از تکنیک جدیدی جهت رنگ آمیزی کروموزومها استفاده میشود و آن بکار بردن Giemsa است. باین روش مشخص میگردد که هر کروموزومی دارای باند های بخصوصی است که کاملاً اختصاصی برای آن کروموزوم میباشد و کافی است با مطالعه این باندها کروموزومها را بدقت تعیین هویت نمود.

در اشکال (۲۲) و (۲۳) کاریوتایپ تهیه شده با رنگ آمیزی معمولی و رنگ آمیزی باگیمسا جهت مقایسه نشان داده شده است.



شکل (۲۲)



شکل (۲۳)

خونریزی و احتمالاً حساسیت گروهی و برای بچه ، خطر سقط، ناهنجاری و اصابت سوزن به بدن .
در تابلوی زیر اغتشاشات متابولیکی فامیلیال که بوسیله آمینوسنتز تشخیص داده میشود ذکر مینمائیم .

۳ - کاربرهای X-Linked نظیر هموفیلی .
۴ - افراد فامیلی که اختلال متابولیکی مشخص دارند .
۵ - مادری با سابقه قبلی تریزومی ۲۱ (سندرم دان) عوارض این عمل يك درصد است . برای مادر عفونت و

وسیله تشخیص	نوع بیماری
<p>نقصان α-1,4-Glucosidase</p> <p>نقصان Hexosaminidas A</p> <p>تغییرات کمی و کیفی درموکوپولی ساکاریدها</p> <p>افزایش مقدار متیل مالونات</p> <p>افزایش ۱۷ کتواستروئیدها و پرگناتریول</p>	<p>مايع آمینوتیک :</p> <p>۱ - بیماری Pomp</p> <p>۲ - بیماری Tay - Sacks</p> <p>۳ - موکوپولی ساکاریدوز</p> <p>۴ - پیدایش اسید متیل مالونیک در ادرار</p> <p>۵ - سندرم آدرنوژنیئال</p>
<p>نقصان α-1,4-Glucosidase</p> <p>نقصان Hexosaminidase A</p>	<p>سلولهای مايع آمینوتیک بدون کشت</p> <p>۱ - بیماری Pomp</p> <p>۲ - بیماری Tay - Sacks</p>
<p>نقصان α-1,4-Glucosidase</p> <p>نقصان گالاکتوز - ۱ - فسفات یوریدیل ترانسفراز</p> <p>اتورادیوگرافی</p> <p>نقصان اسفنگومیلیناز</p> <p>کمبود اسید فسفاتاز لیزوسومل</p> <p>نقصان Ceramide Trihexosidase</p> <p>نقصان Aryl Sulfase A</p> <p>گرانولهای متاکروماتیک و 35 SO4 Kinetics آنورمال</p> <p>گرانولهای متاکروماتیک</p> <p>گرانولهای متاکروماتیک</p> <p>نقصان Hexosaminidase A</p>	<p>سلولهای مايع آمینوتیک همراه کشت</p> <p>۱ - بیماری Pomp</p> <p>۲ - گالاکتوزمی</p> <p>۳ - X-linked Uric Aciduria</p> <p>۴ - بیماری نیمن پیک</p> <p>۵ - نقصان اسید فسفاتاز Lysosomal</p> <p>۶ - بیماری Fabry</p> <p>۷ - لکودیستروفي متاکروماتیک</p> <p>۸ - موکوپولی ساکاریدوزیس</p> <p>۹ - سیستیک فایبروزیس</p> <p>۱۰ - سندرم مارمان</p> <p>۱۱ - بیماری Tay - Sacks</p>
<p>ترشح متیل مالونات</p> <p>استریول ادرار</p>	<p>مواد نادر</p> <p>۱ - پیدایش اسید متیل مالونیک در ادرار</p> <p>۲ - سندرم آدرنوژنیئال</p>