Medical Journal
of
Tabriz University of Medical Sciences

Original Article

Study of pregnant women with high risk of fetus abnormalities by routine cytogenetics method (karyotyping) and molecular method (FISH) by using X and Y probs and comparing the advantages and disadvantages of these methods in the northwest of Iran's patients

Parisa Vahidi[1], Seyed Ali Rahmani[2*], Nahid Hadige Rezvan[3]

[1]Msc. Student in Molecular Genetics, Department of Biology, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
[2]Department of Biology, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
[3]Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
*Corresponding author; E-mail: rahmaniseyedali@yahoo.com

Received: 11 Jun 2019 Accepted: 14 Jul 2019 First Published online: 17 April 2021
Med J Tabriz Uni Med Sciences. 2021;43(1):108-115

Abstract

Background: The health of the fetus during the 9 months of pregnancy is very important for every pregnant couple. Identifying carriers of the genetic diseases and their diagnosis before birth, controls the disease's prevalence and does not impose huge costs on the patient's family and community. This study aimed to evaluate the rapid prenatal diagnosis importance in the chromosomal abnormalities identification.

Methods: 50 amniotic fluid samples were studied by karyotyping and fluorescence in situ hybridization (FISH). Karyotyping was performed on me taphase chromosomes to identify all the chromosomal abnormalities and FISH detected chromosomal abnormalities by using X and Y probs, as the rapid method.

Results: We identified one cases of Down syndrome (2%), three cases of extension in the polymorphism region of P arms of chromosome 15(15p+) (6%), one cases of extension in the polymorphism region of chromosome 9 (9 qh+) (2%), one case of peristaltic inversion in chromosome Y (2%), one case of XYY mosaic embryo, 46, XY /47, XYY variant (2%) and one case with the extra unknown segment on P arms of chromosome 15 (2%).

Conclusion: FISH is a useful method with high sensitivity to provide rapid results for couples who don't have enough time to end their pregnancy legally. In cases of X-linked diseases, it is a reliable method to learn the sex of the fetus. FISH is not able to detect structural anomalies, therefore karyotyping is required for absolute right outcomes of chromosome abnormalities.

Keywords: Chromosomal Abnormalities, Fluorescent in Situ Hybridization, Karyotyping

How to cite this article: Vahidi P, Rahmani SA, Hadige Rezvan N. [Study of pregnant women with high risk of fetus abnormalities by routine cytogenetics method (karyotyping) and molecular method (FISH) by using X and Y probs and comparing the advantages and disadvantages of these methods in the northwest of Iran's patients]. Med J Tabriz Uni Med Sciences. 2021;43(1):108-115. Persian.

© 2021 The Author. This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

مقاله پژوهشی

مطالعه خانم‌های باردار با ریسک بالای آنومالی جنینی به روش‌های سیتوژنتیک روتین (karyotyping) و سیتوژنتیک مولکولی (FISH) با به‌کارگیری پروب‌های X و Y و مقایسه مزایا و معایب هرکدام از روش‌های تشخیص در مبتلایان شمالغرب ایران

پریسا وحیدی[۱]، سیدعلی رحمانی[۲*]، ناهید حدیقه رضوان[۳]

[۱]کارشناسی ارشد ژنتیک مولکولی، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران
[۲]گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران
[۳]دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
[*]نویسنده مسؤول؛ ایمیل: rahmaniseyedali@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۸/۳/۲۱ پذیرش: ۱۳۹۸/۴/۲۳ انتشار برخط: ۱۴۰۰/۱/۲۸
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز. ۱۴۰۰؛۴۳(۱): ۱۰۸-۱۱۵

چکیده

زمینه: برای هر زوج باردار سلامت جنین طی ۹ ماه بارداری و بررسی جنین از نظر ناهنجاری‌های ژنتیکی و مادرزادی بسیار اهمیت دارد. به منظور کنترل شیوع بیماری‌های ژنتیکی در جامعه و عدم تحمیل هزینه‌های زیاد به خانواده بیمار و اجتماع، شناسایی ناقلان و تشخیص پیش از تولد آنها ضروری است.

روش‌کار: در مطالعه حاضر ۵۰ نمونه مایع آمنیوتیک باهم بررسی سیتوژنتیک روتین و سیتوژنتیک مولکولی (FISH) شدند. آمنیوسنتز در هفته‌های ۱۴ تا ۱۶ بارداری با بررسی کروموزوم‌های متافازی برای تشخیص ناهنجاری‌های کروموزومی و ژنتیکی انجام می‌شود. FISH روشی سریع با حساسیت بالا که با استفاده از پروب‌های X و Y برای تشخیص ناهنجاری‌های عددی کروموزوم‌های جنسی به کار می‌رود.

یافته‌ها: در این مطالعه یک مورد جنین مبتلا به سندرم داون (۲ درصد)، سه مورد جنین مبتلا به extension در منطقه پلی‌مورفیسم بازوی کوتاه کروموزوم ۱۵ (p۱۵+) (۶ درصد)، یک مورد جنین مبتلا به extension در منطقه پلی‌مورفیسم بازوی بلند کروموزوم ۹ (qh۹+) (۲ درصد)، یک مورد جنین مبتلا به واژگونی پری‌سانتریک در کروموزوم Y (۲ درصد)، یک مورد جنین مبتلا به موزاییسم XYY، واریانت XY,۴۶/ XYY,۴۷ (۲ درصد) و یک مورد جنین مبتلا به قطعه ناشناخته اضافی در بازوی P کروموزوم ۱۵ (۲ درصد) مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: تکنیک FISH می‌تواند برای زوجینی که زمان کافی برای انجام تکنیک سیتوژنتیک روتین ندارند و همچنین در بیماری‌های وابسته به جنس و در تعیین جنسیت جنین اهمیت داشته باشد. FISH قادر به تشخیص ناهنجاری‌های ساختاری نخواهد بود، همین امر موجب وابستگی این تکنیک به انجام کاریوتایپ جهت تشخیص دقیق ناهنجاری‌های کروموزومی می‌شود.

کلیدواژه‌ها: کاریوتایپینگ، ناهنجاری‌های کروموزومی، هیبریداسیون فلورسانس درجا

نحوه استناد به این مقاله: وحیدی پ، رحمانی س ع، حدیقه رضوان ن. مطالعه خانم‌های باردار با ریسک بالای آنومالی جنینی به روش‌های سیتوژنتیک روتین (karyotyping) و سیتوژنتیک مولکولی (FISH) با به‌کارگیری پروب‌های X و Y و مقایسه مزایا و معایب هرکدام از روش‌های تشخیص در مبتلایان شمالغرب ایران. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز. ۱۴۰۰؛۴۳(۱):۱۰۸-۱۱۵

حق تالیف برای مولف محفوظ است.
این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی تبریز تحت مجوز کریتو کامنز (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر گردیده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

امروزه با پیشرفت‌های به‌عمل‌آمده در ژنتیک، به‌طور بالقوه امکان تشخیص قبل از تولد نقص‌های کروموزومی و تمامی بیماری‌های ژنتیکی که ژن بیماری‌زا در آن‌ها شناسایی شده فراهم شده است. بنابراین به‌منظور کنترل شیوع بیماری‌های ژنتیکی در جامعه لازم است اقداماتی در خصوص شناسایی ناقلان بیماری‌های ژنتیکی و تشخیص پیش از تولد آن‌ها صورت پذیرد. (۲،۱) تشخیص پیش از تولد مطمئن‌ترین راه پیشگیری از تولد نوزادان دارای ناهنجاری‌های کروموزومی و همچنین بیماری‌های ارثی و مادرزادی است (۳). توصیه این روش‌ها به والدین در کنترل شیوع بیماری در جامعه، تشخیص ناقلین و تشخیص افراد موزاییسم کمک زیادی کرده و باعث کاهش هزینه‌های تحمیلی ناشی از این بیماران به خانواده و جامعه آن‌ها می‌شود.(۴) تشخیص پیش از تولد به زوجین این فرصت را می‌دهد که از وضعیت جنین خود مطلع شوند و در خصوص ادامه حاملگی یا سقط درمانی با توجه به قوانین جاری کشور تصمیم صحیح بگیرند. همین‌طور امکان داشتن فرزند سالم را برای زوجینی که ناقل ژن‌های بیماری‌زا هستند فراهم می‌کند (۵).

بیماری‌های ژنتیکی می‌توانند به ۳ گروه تقسیم شوند:

۱) بیماری‌های تک‌ژنی

۲) بیماری‌های چندژنی و یا مولتی‌ژنیک

۳)ناهنجاری‌های کروموزومی شامل ناهنجاری‌های عددی و ساختاری (۶)

ناهنجاری‌های کروموزومی

۳ درصد از نوزادان یا ۳ درصد تولدهای زنده با ناهنجاری‌های مادرزادی همراه خواهند بود و حدود ۰/۵ تا ۱ درصد نوزادان مبتلا به اختلالات کروموزومی هستند. ناهنجاری‌های کروموزومی سهم بزرگی از سقط‌های خودبه‌خودی و بدخیمی دوران کودکی و بزرگسالی را دربر دارند. ۹۵ درصد ناهنجاری‌های کروموزومی به‌صورت ناهنجاری‌های عددی و ۵ درصد آن‌ها به‌صورت ناهنجاری‌های ساختمانی بروز می‌یابند. در این میان ۲۵ درصد ناهنجاری‌های عددی مرتبط با کروموزوم‌های جنسی است (۱ در ۴۰۰) که ۲۰ درصد آن‌ها مرتبط با کروموزوم X است(۷). ناهنجاری‌های مادرزادی ۷۰ درصد علت ژنتیکی دارند پس آنالیز کروموزومی یک جز کلیدی برای بررسی ناهنجاری‌ها و اختلالات ژنتیکی خواهد بود (۸). از بیماری‌های مرتبط با ناهنجاری‌های کروموزوم‌های جنسی می‌توان به سندرم ترنر (مونوزومی X) با شیوع ۱ در ۲۰۰۰ تا ۵۰۰۰ نوزاد که ۹۰ درصد منجر به سقط یا مرده زایی می‌شود،(۹) زنان XXX با شیوع ۱ در۱۰۰۰، کلاین فلتر (مردان XXY) با شیوع ۱ در۱۰۰۰ و مردان XYY با شیوع ۱ در۱۰۰۰ اشاره کرد(۱۰). همچنین می‌توان به بیماری‌های وابسته به جنس مانند هموفیلی و دیستروفی عضلانی دوشن اشاره کرد که در این موارد تعیین جنسیت جنین اهمیت داشته و ممکن است در مدیریت بیماری‌های ژنتیکی مرتبط با X کمک کند(۱۱).

بارداری پرخطر و فاکتورهای دخیل در آن

بیش از ۳۰ سال است که روش‌های تشخیص پیش از تولد در زنان باردار با فاکتورهای بارداری پرخطر مورد توجه است(۱۲). از فاکتورهای یک بارداری پرخطر می‌توان به نتایج غیرعادی سونوگرافی، سطح غیرطبیعی مارکرهای بیوشیمیایی در تست‌های غربالگری، وارونگی و یا اضافه‌شدگی در یکی از والدین، ناهنجاری کروموزومی در دیگر فرزندان خانواده، سقط‌های مکرر، سابقه اختلالات کروموزومی در حاملگی‌های قبلی و از همه مهم‌تر به سن بالای ۳۵ سال مادر اشاره کرد(۱۳،۱۴). همچنین تعیین جنسیت در مواردی که بیماری وابسته به جنس محتمل است می‌تواند فاکتوری برای یک بارداری پرخطر باشد(۱۱).

انواع روش‌های تشخیصی پیش از تولد

معرفی روش‌های تشخیص پیش از تولد باید شامل تجزیه‌وتحلیل مزایای روش در مقابل معایب، اثربخشی و هزینه آن باشد. همه این روش‌ها مزایا و معایبی دارند که بررسی آن‌ها بر نتایج بارداری، ترغیب افراد به انجام تست‌های تشخیص پیش از تولد، سلامت فرزندان و آینده آن‌ها تاثیرگذار خواهد بود. با توجه به اینکه بیماری‌های ژنتیکی درمان قطعی ندارند، تشخیص پیش از تولد و ختم قانونی بارداری بهترین روش برای کنترل بیماری‌های ژنتیکی خواهد بود(۱۵،۱۶). آمنیوسنتز، نمونه‌گیری از پرزهای کوریونی (CVS)، کاریوتایپینگ و روش‌های جدیدتر مانند MLPA، QF-PCR، cfDNA و FISH از روش های تشخیصی پیش از تولد هستند(۱۷).

تکنیک آمنیوسنتز

آمنیوسنتز یک روش نمونه‌گیری است که بین هفته‌های ۱۴ تا ۱۶ بارداری برای تشخیص ناهنجاری‌های کروموزومی و ژنتیکی و نقایص لوله عصبی جنین انجام می‌شود(۵). میزان کمی از مایع اطراف جنین برداشته‌شده و برای آنالیز کروموزومی و تشخیص بیماری‌های تک‌ژنی به آزمایشگاه ژنتیک ارسال می‌شود(۱۵).

تکنیک کاریوتایپینگ

هدف از انجام این روش، بررسی کروموزوم‌های متافازی مایع آمنیون کشت شده است(۱۵). این روش در تشخیص

ناهنجاری‌های مرتبط با تریزومی‌های کروموزوم‌های جنسی مانند سندرم ترنر و کلاین‌فلتر کاربرد زیادی دارد و دقت آن در تشخیص این بیماری‌ها بیش از ۹۹ درصد است(۱۸). از آنجایی که در ایران تنها در بارداری‌های کمتر از چهار ماه کامل (۱۹ هفته) مجوز ختم بارداری توسط پزشکی قانونی صادر می‌شود، لذا انجام این آزمایش بین هفته‌های ۱۴ تا ۱۶ بارداری توصیه می‌شود(۱۹).

تکنیک هیبریداسیون فلورسانس درجا (FISH)

طی ۳ دهه اخیر روش‌های تشخیص پیش از تولد به سمت روش‌هایی با زمان کشت کم، بدون کشت و کروموزوم‌های چگال‌تر می‌رود(۲۰). در حال حاضر، با این تکنیک می‌توان پنج کروموزوم ۱۳، ۱۸، ۲۱، X و Y را به‌طور هم‌زمان در یک سلول ارزیابی کرد. در بیماری‌های وابسته به جنس نیز می‌توان از این تکنیک برای تعیین جنسیت و ناهنجاری‌های کروموزومی عددی و ساختاری استفاده کرد(۲۱). دستیابی به نتیجه خیلی سریع توسط این تکنیک مزیت اصلی این روش بوده و آن را به استاندارد طلایی تبدیل کرده است. عدم نیاز به کشت آمنیوسیت‌ها موجب می‌شود که طی ۲۴ ساعت جواب آزمایش آماده شود(۲۰). تکنیک FISH نسبت به تکنیک کاریوتایپینگ سریع‌تر بوده ولی اطلاعات کمتری نسبت به کاریوتایپینگ در اختیار می‌گذارد(۲۲). با توجه به شیوع ناهنجاری‌های کروموزومی در جنین و نوزادان، مطالعه روی روش‌های تشخیص پیش از تولد از جایگاه بسیار مهمی دارد. همچنین با توجه به اهمیت سلامت جنین‌ها مطالعات سیتوژنتیکی با روش‌های مدرن در تمام آزمایشگاه‌های ژنتیک ضروری به‌نظر می‌رسد. در این مطالعه روش‌های سیتوژنتیک روتین (کاریوتایپینگ) و سیتوژنتیک مولکولی (FISH) با به‌کارگیری پروب‌های X و Y برای شناسایی ناهنجاری‌ها استفاده شده است. با توجه به اجازه سقط در صورت وجود دو پاسخ همسان توسط دو روش سریع، بررسی دقت و صحت روش FISH به‌عنوان یکی از روش‌های سریع الزامی است.

روش کار

افراد بررسی شده در این مطالعه خانم‌های با بارداری پرخطر هستند. ۵۰ نمونه مایع آمنیون توسط متخصص پری‌ناتالوژی به آزمایشگاه سیتوژنتیک دکتر رحمانی ارجاع داده شده بودند که نمونه‌ها همزمان ازلحاظ سیتوژنتیکی به روش کاریوتیپینگ و روش FISH با استفاده از پروب‌های X ، Y و ۱۸ مطالعه شدند. زنان باردار پس از انجام غربالگری‌های اولیه، سونوگرافی، تست‌های غربالگری بیوشیمیایی و مراجعه به پزشک متخصص، در صورت مثبت بودن نتیجه آزمایش‌ها و داشتن هر یک از ریسک‌های بارداری پرخطر با دریافت فرم رضایت آگاهانه از بیماران، برای نمونه‌گیری به مراکز مجهز و پزشک متخصص پری‌ناتولوژیست معرفی شدند. حدود ۲۰ میلی‌لیتر نمونه مایع آمنیون به آزمایشگاه ارجاع داده شده و ادامه آزمایش‌ها در بخش سیتوژنتیک انجام شد.

کشت نمونه در محیط آمنیومکس

در این مرحله ابتدا سلول‌های جنینی که در مایع آمنیون وجود دارند از مایع جدا می‌شوند. برای کشت نمونه از محیط کشت استاندارد و تازه آمنیومکس استفاده شد. فلاسک‌های کشت در شرایط رطوبت ۸۸ درصد و CO_2 ۵ درصد و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. رسیدن تعداد سلول‌ها به میزان کافی جهت مطالعه، در کشت آمنیون به مدت ۹ تا ۱۱ روز طول می‌کشد. تمام کشت‌ها در شرایط استریل انجام شد.

مرحله هاروست

رشد سلول‌ها در مرحله‌ای از چرخه سلولی که در آن کروموزوم‌ها کشیده و قابل مطالعه هستند (مرحله متافاز)، توسط کلسماید متوقف می‌شود و سپس نمونه وارد مراحل بعدی شامل لام‌گیری، رنگ‌آمیزی و آنالیز می‌شود. آنالیز توسط آنالیزورهای حرفه‌ای انجام می‌گیرد و جواب در چند مرحله چک می‌شود و سپس به‌صورت جواب نهایی ارایه می‌شود. برای اطمینان از حصول نتیجه دقیق، تمام مراحل بالا به‌طور موازی در دو کشت مجزا انجام می‌شود.

تست سیتوژنتیکی مولکولی (FISH)

۵ میلی‌لیتر نمونه مایع آمنیون برای آزمایش FISH نیاز بود. هدف از بررسی نمونه‌ها درنهایت تشخیص جنین‌های مبتلا به ناهنجاری‌های کروموزومی در کروموزوم‌های X، Y و ۱۸ است. برای انجام این تست کیت‌های ۳ پروبه از شرکت سایتوسل تهیه شد. این پروب‌ها، پروب‌های سانترومری هستند. برای انجام آزمایش FISH مایع آمنیون به محیط هیپوتونیک KCL منتقل و بعد از انجام سانتریوفوژ و فیکس کردن، لام‌گیری می‌شود.

تهیه لام

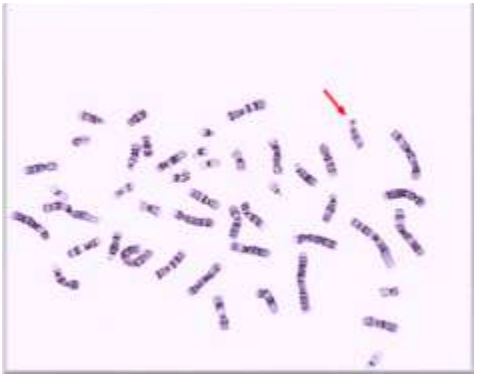
۲ لام برای هر نمونه تهیه شد. سلول ها روی لام‌ها ریخته شد و بعد از اضافه کردن SSC و پپسین، لام‌ها شستشو و فیکس شدند. بعد از مرحله لام‌گیری، پروب‌های خریداری‌شده روی لام‌ها ریخته و پس از اتصال پروب و DNA ، لام‌ها توسط میکروسکوپ فلورسنس بررسی و آنالیز می‌شوند. آنالیز لام‌ها شامل شمارش نقطه‌ای حدود ۱۰۰ سلول است.

یافته‌ها

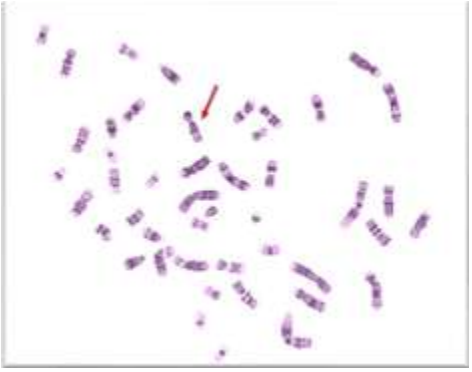
نتایج حاصل از تست سیتوژنتیکی روتین

در ۵۰ نمونه مایع آمنیون مورد بررسی سیتوژنتیک روتین (کاریوتایپینگ)، در هشت مورد از آن‌ها ناهنجاری‌هایی به شرح زیر مشاهده شد:

یک مورد جنین مبتلا به سندرم داون (۲ درصد)، سه مورد جنین مبتلا به extension در منطقه پلی‌مورفیسم بازوی کوتاه کروموزوم ۱۵ (+p۱۵) (۶ درصد) ، یک مورد جنین مبتلا به extension در منطقه پلی‌مورفیسم بازوی بلند کروموزوم ۹ (+qh۹) (۲ درصد)، یک مورد جنین مبتلا به واژگونی پری‌سانتریک در کروموزوم Y (۲ درصد)، یک مورد جنین مبتلا به موزاییسم XYY (۲ درصد) واریانتXY,۴۶/ XYY,۴۷ و یک مورد جنین مبتلا به قطعه ناشناخته اضافی در بازوی P کروموزوم ۱۵ (۲ درصد).(شکل ۱-۲-۳-۴)



شکل ۱: کاریوتایپ +XX;15p,۴۶



شکل ۲: کاریوتایپ قطعه ناشناخته اضافی در بازوی P کروموزوم ۱۵

شکل ۳: واژگونی پری‌سانتریک کروموزوم Y (XY;inv Y,۴۶)

شکل ۴: کاریوتایپ +XY;9qh,۴۶

نتایج حاصل از تست سیتوژنتیکی مولکولی

در ۵۰ نمونه مایع آمنیون مورد بررسی سیتوژنتیک مولکولی، هیچ ناهنجاری ساختاری مشاهده نشد و یک مورد ناهنجاری عددی به شرح زیر مشاهده شد:

یک مورد جنین مبتلا به موزاییسم XYY (۲ درصد) واریانتXY,۴۶/ XY,۴۷. با توجه به این که پروب کروموزوم ۲۱ در کیت خریداری شده موجود نبود، جنین مبتلا به سندرم داون مشاهده نشد. بررسی اطلاعات فردی و خانوادگی مراجعه‌کنندگان نشان داد که هفده نفر از مادران سن بالای ۳۵ سال داشتند. سابقه یک آنومالی در فرزند قبلی مراجعه‌کنندگان وجود داشت که شامل یک فرزند پسر با معلولیت بود. شانزده نفر از مادران سابقه سقط داشتند. هفت مورد از والدین خویشاوندان دارای ناهنجاری داشتند. همچنین در سه مورد از والدین، آنومالی دیده شده در جنین مشاهده شد. شش نفر از مادران با همسر خود نسبت خویشاوندی درجه ۳ و سه نفر نسبت خویشاوندی درجه ۵ داشتند. بیست وهشت نفر در هفته ۱۱ بارداری، سونوگرافی آنومالی شده بودند که شش مورد ضخامت بیشتر از ۲/۵ میلی‌متر داشتند. یک جنین با آنومالی کلیه، یک جنین با کیست مغزی و مشکل قلبی و دو جنین با اکوژن قلبی شناسایی شد. بر اساس غربالگری سه ماهه اول

بارداری، بیست ویک نفر از مادران خطر سندرم داون، شش نفر خطر تریزومی ۱۸، چهار نفر خطر تریزومی ۱۳ و شش نفر خطر سندرم داون به‌واسطه سن مادر به‌تنهایی داشتند.

بحث

طی ۳ دهه اخیر، پیشرفت‌ها در روش‌های تشخیصی پیش از تولد در راستای افزایش وضوح کروموزوم‌ها و کاهش زمان کشت بوده است. معرفی فناوری‌های جدید به طرز چشمگیری باعث تغییر در غربالگری‌ها و روش‌های تشخیصی پیش از تولد برای اختلالات ژنتیکی شده است. در سال ۲۰۱۱، دانیلا ناگوس مطالعه‌ای روی ۱۱۵۹ خانم باردار انجام داد. در این پژوهش از تکنیک‌های آمنیوسنتز و FISH استفاده شد. با توجه به نتایج کاریوتیپ انجام شده ۹۲/۹۴ درصد موارد، کاریوتیپ طبیعی داشتند که ۴/۵۰ درصد اختلالات کروموزومی ساختاری و ۲/۵۶ درصد جنین‌ها اختلالات کروموزومی عددی را با توزیع زیر تشکیل می‌دهند: هفده مورد جنین مبتلا به تریزومی ۲۱ (۱/۷۴ درصد)، دو مورد جنین مبتلا به تریزومی ۱۸ (۰/۲ درصد)، یک مورد جنین مبتلا به تریزومی X (۰/۱ درصد)، یک مورد جنین مبتلا به XXY (۰/۱ درصد) مشاهده شد. تجزیه و تحلیل FISH نشان داد که ۹۷/۴۷ درصد از حاملگی کروموزوم طبیعی داشتند و تنها ۲/۵۳ درصد موارد ناهنجاری کروموزومی داشتند که ۱۹ مورد جنین مبتلا به ناهنجاری کروموزوم‌های اتوزومال (۱/۸۵ درصد) و ۷ مورد جنین مبتلا به ناهنجاری کروموزوم‌های جنسی (۰/۶۸ درصد) بود. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از دو تکنیک مطرح‌شده در این مطالعه و مطالعه حاضر، تحقیقات بیشتری برای اطمینان از صحت و دقت تکنیک FISH در شناسایی ناهنجاری‌های ساختاری نیاز است. در سال ۲۰۱۳ ، اشیش فوزدار و همکارانش مطالعه‌ای روی ۱۶۳ نفر انجام دادند. در این پژوهش نمونه ۱۱۶ فرد با تکنیک‌های آمنیوسنتز و FISH مطالعه شدند. صحت تکنیک FISH ۹۷/۵ درصد گزارش و تنها ۳ مورد موزاییسم مشاهده شد. اما صحت تکنیک آمنیوسنتز ۹۱/۴ درصد گزارش شد که علت آن شکست کشت سلولی در ۱۰ نمونه بود. در مطالعه حاضر، ۵۰ نمونه مایع آمنیون بررسی سیتوژنتیک مولکولی (FISH) و کاریوتایپینگ شدند که در تکنیک FISH هیچ ناهنجاری ساختاری مشاهده نشد. به علت عدم شکست کشت سلولی در مطالعه حاضر، تمام ناهنجاری های عددی و ساختاری توسط تکنیک آمنیوسنتز شناسایی شدند. همچنین ۱ نمونه موزاییسم توسط هر دو روش شناسایی شد. در سال ۲۰۱۷، هوپین چانگ و همکارانش در تایوان برای درک بهتر از وضعیت سن بالای مادر در میان معیارهای ارایه آمنیوسنتز، روی ۳۱۵۶۷۰ زن باردار مطالعه‌ای انجام دادند. از بین این تعداد نمونه بررسی شده ۷۶۴۲ جنین ناهنجاری داشتند. در نتایج مطالعه ۱۹۶۷ مورد جنین مبتلا به تریزومی ۲۱، ۱۷۸ مورد جنین مبتلا به تریزومی ۱۳، ۶۲۶ مورد جنین مبتلا به تریزومی ۱۸، ۲۴۲ مورد جنین مبتلا به تریزومی X، ۳۹۱ مورد جنین مبتلا به کلاین فیلتر، ۵۳۸ مورد جنین مبتلا به مونوزومی X و ۱۷۸ مورد جنین مبتلا به جاکوب گزارش شده است. در این مطالعه ۷۵/۱۱ درصد مراجعه‌کنندگان سن بالای ۳۵ سال داشتند که در ۲/۱۶ درصد از آن‌ها ناهنجاری مشاهده شد که بیشترین ناهنجاری اتوزومال، تریزومی ۲۱ و بیشترین ناهنجاری جنسی مونوزومی X بود. در مطالعه حاضر، ۳۴ درصد مراجعه‌کنندگان سن بالای ۳۵ سال داشتند که در ۱۰ درصد از آن‌ها ناهنجاری مشاهده شد که بیشترین آن‌ها ناهنجاری‌های ساختاری بودند. علت تفاوت در نتایج دو مطالعه به دلیل تفاوت بسیار زیاد در تعداد نمونه‌های بررسی شده است.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج گرفته شده در این مطالعه و نیز مقایسه‌های انجام‌یافته با مطالعات دیگر، تکنیک FISH روشی سریع و قابل‌اطمینان با حساسیت بالا در تشخیص ناهنجاری‌های عددی برای افرادی که زمان کافی برای انجام کاریوتایپ ندارند خواهد بود. همچنین در بیماری‌های وابسته به جنس و در تعیین جنسیت جنین اهمیت داشته و ممکن است در مدیریت بیماری‌های ژنتیکی مرتبط با X کمک کند. علی‌رغم جنبه‌های مثبت، این روش قادر به تشخیص ناهنجاری‌های ساختاری در صورت نبود پروب خاص مربوط به آن ناهنجاری نیست که موجب وابستگی آزمایش به انجام کاریوتایپ جهت تشخیص دقیق پیش از تولد ناهنجاری‌های کروموزومی می‌شود. همچنین هزینه بالای این تکنیک نسبت به کاریوتایپ علاقه والدین به انجام آن را کم می‌کند. با این حال در روش کاریوتایپینگ حتی با وضوح بالای G-banding، حذف یا تکرارهای کمتر از ۵ Mb معمولا در میکروسکوپ نوری تشخیص داده نمی‌شوند. یعنی ناهنجاری‌های ساختاری کروموزومی که ممکن است با ناتوانی‌های جسمی و ذهنی همراه باشند شناسایی نمی‌شود. همچنین اضطراب والدین به علت طولانی بودن زمان تشخیص می‌تواند از معایب دیگر کاریوتایپینگ باشد. شکست در کشت سلولی ۰/۵ تا ۱ درصد است. از سوی دیگر دقت آمنیوسنتز در تشخیص ناهنجاری‌ها ۹۹/۵ درصد بوده و تمام ناهنجاری‌های تعدادی و تعداد بسیاری از ناهنجاری‌های ساختاری در این روش قابل تشخیص هستند. در این شرایط، روش‌های سریع تشخیصی مانند FISH به‌عنوان تست تکمیلی در کنار کاریوتایپینگ هستند. سوال این است که آیا FISH می‌تواند به‌تنهایی به‌عنوان تست تشخیصی پیش از تولد استفاده شود. همه روش‌های تشخیصی مزایا و محدودیت‌هایی دارند که با توجه به آن‌ها، معرفی یک تکنیک سریع این سوال را ایجاد می‌کند که آیا کاریوتایپ روشی ضروری در تمام موارد است یا نه.

قدردانی

مطالعه حاضر نتیجه پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته ژنتیک مولکولی است که با کد ۱۰۲۳۰۵۰۳۹۶۱۰۰۳ در سامانه پایان‌نامه دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز ثبت شده است. از کادر محترم آزمایشگاه ژنتیک پزشکی دکتر رحمانی که ما را در انجام این تحقیق یاری کردند تشکر می‌کنیم.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر با کد اخلاقی IR.TBZMED.REC.1397.258 در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز، استان آذربایجان شرقی تایید شده است. فرایندهای انجام شده با استانداردهای اخلاقی کمیته مسئول در رابطه با آزمایش های انسانی و بیانیه هلسینکی بوده است. بیماران با دریافت فرم کتبی رضایت آگاهانه از خود بیمار و یا بستگان درجه ۱ بیمار وارد مطالعه شدند.

منابع مالی

منابع مالی ندارد.

منافع متقابل

مولف اظهار می‌دارد که منافع متقابلی از تالیف و یا انتشار این مقاله ندارد.

مشارکت مؤلفان

پ. وحیدی تالیف، طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه و ن. ح. رضوان جمع‌آوری نمونه‌ها و داده‌ها را عهده داشتند. ع. رحمانی نسخه نهایی مقاله را خوانده و تایید کرده است.

References

1. Bukvic D, Fanelli M, Ginevra G, Bukvic N. Justifiability of amniocentesis on the basis of positive findings of triple test, ultrasound scan and advanced maternal age. Acta Medica Academica. 2011 Apr 10;40(1):10-6.
2. Temming LA, Macones GA. What is prenatal screening and why to do it? Semin Perinatol. 2016 Feb;40(1):3-11. doi: 10.1053/j.semperi.2015.11.002. Epub 2015 Dec 18. PMID: 26708051.
3. Chitty L. Prenatal screening for chromosome abnormalities. Br Med Bull. 1998;54(4):839-56. doi: 10.1093/oxfordjournals.bmb.a011733. PMID: 10367418.
4. Hasanzadeh R, Naghizadeh S, Azari S,Ebrahimpour Mirza Rezaei M. Diagnosis of Aneuploidies by amniocentesis in high risk cases of first trimester screening test. The Iranian Journal of Obstetrics, Gynecology and Infertility. 2014;17(119):18-26. doi: 10.22038/ijogi.2014.3507. [Persian].
5. Alfirevic Z, Navaratnam K, Mujezinovic F. Amniocentesis and chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. Cochrane Database Syst Rev. 2017 Sep 4;9(9):CD003252. doi: 10.1002/14651858.CD 003252.pub2. PMID: 28869276; PMCID: PMC6483702.
6. Wieacker P, Steinhard J. The prenatal diagnosis of genetic diseases. Dtsch Arztebl Int. 2010 Dec;107(48):857-62. doi: 10.3238/arztebl.2010.0857. Epub 2010 Dec 3. PMID: 21173933; PMCID: PMC3004373.
7. Midtrimester amniocentesis for prenatal diagnosis. Safety and accuracy. JAMA. 1976 Sep 27;236(13):1471-6. doi: 10.1001/jama.1976.03270140 023016. PMID: 989112.
8. Gonzales PR, Carroll AJ, Korf BR. Overview of Clinical Cytogenetics. Curr Protoc Hum Genet. 2016 Apr 1;89:8.1.1-8.1.13. doi: 10.1002/0471142905.hg0 801s89. PMID: 27037488.
9. Tobias ES, Connor M, Ferguson-Smith M. Essential Medical Genetics. John Wiley & Sons; 2011 Nov 15.
10. Nussbaum RL, McInnes RR, Williard HF, Thompson JS, Thompson MW. Genetics in medicine. Philadelphia, PA: Saunders; 2007.
11. Abbott MA, Benn P. Prenatal genetic diagnosis of Down's syndrome. Expert Rev Mol Diagn. 2002 Nov;2(6):605-15. doi: 10.1586/14737159.2.6.605. PMID: 12465456.
12. Van den Veyver IB. Recent advances in prenatal genetic screening and testing. F1000Res. 2016 Oct 28;5:2591. doi: 10.12688/f1000research.9215.1. PMID: 27853526; PMCID: PMC5089140.
13. Boormans EM, Birnie E, Bilardo CM, Oepkes D, Bonsel GJ, van Lith JM. Karyotyping or rapid aneuploidy detection in prenatal diagnosis? The different views of users and providers of prenatal care. BJOG. 2009 Sep;116(10):1396-9. doi: 10.1111/j.1471-0528.2009.02229.x. Epub 2009 Jun 29. PMID: 19566583.
14. Oneda B, Steindl K, Masood R, Reshetnikova I, Krejci P, Baldinger R, et al. Noninvasive prenatal testing: more caution in counseling is needed in high risk pregnancies with ultrasound abnormalities. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2016 May;200:72-5. doi: 10.1016/j.ejogrb.2016.02.042. Epub 2016 Mar 8. PMID: 26989803.
15. Cuckle H. Prenatal Screening Using Maternal Markers. J Clin Med. 2014 May 9;3(2):504-20. doi: 10.3390/jcm3020504. PMID: 26237388; PMCID: PMC4449694.
16. Carlson LM, Vora NL. Prenatal Diagnosis: Screening and Diagnostic Tools. Obstet Gynecol Clin North Am. 2017 Jun;44(2):245-56. doi: 10.1016/j.ogc.2017.02.004. PMID: 28499534; PMCID: PMC5548328.

17. Hixson L, Goel S, Schuber P, Faltas V, Lee J, Narayakkadan A, Leung H, Osborne J. An Overview on Prenatal Screening for Chromosomal Aberrations. J Lab Autom. 2015 Oct;20(5):562-73. doi: 10.1177/2211068214564595. Epub 2015 Jan 13. PMID: 25587000.
18. Shaffer LG, Bui TH. Molecular cytogenetic and rapid aneuploidy detection methods in prenatal diagnosis. Am J Med Genet C Semin Med Genet. 2007 Feb 15;145C(1):87-98. doi: 10.1002/ajmg.c.30114. PMID: 17290441.
19. Khosravi F, Hesami K, Shahvi R, Savad Zade S. The study of the reasons for therapeutic abortion in clients referring to legal medical centers in Kurdistan province in 2000-2011. SJNMP. 2016;1(4):37-47. doi: 10.29252/sjnmp.1.4.37
20. Hultén MA, Dhanjal S, Pertl B. Rapid and simple prenatal diagnosis of common chromosome disorders: advantages and disadvantages of the molecular methods FISH and QF-PCR. Reproduction. 2003 Sep;126(3):279-97. doi: 10.1530/rep.0.1260279. PMID: 12968936.
21. Sparkes R, Johnson JA, Langlois S, Wilson RD, Allen V, Blight C, et al. New molecular techniques for the prenatal detection of chromosomal aneuploidy. Journal of obstetrics and gynaecology Canada: JOGC = Journal d'obstetrique et gynecologie du Canada: JOGC. 2008;30(7):617-21, 22-7. doi: 10.1016/S1701-2163(16)32896-1
22. Ratan ZA, Zaman SB, Mehta V, Haidere MF, Runa NJ, Akter N. Application of fluorescence in situ hybridization (FISH) technique for the detection of genetic aberration in medical science. Cureus. 2017 Jun;9(6).