ژنتیک نوین
دوره سوم ، شماره۳، پاییز ۱۳۸۷
صفحه ۲۰-۱٤

بررسی اختلالات کروموزومی ساب تلومریک در تعدادی از بیماران ایرانی مبتلا به عقب ماندگی ذهنی با علت نامشخص با استفاده از روش هیبریداسیون فلورسانس درمحل (FISH)

جواد انصاری،فرخنده بهجتی*،کیمیا کهریزی،ساغر قاسمی فیروزآبادی،مژگان عطائی کچوئی،حسین نجم آبادی
مرکز تحقیقات ژنتیک، دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی، اوین، تهران، ایران
*نویسنده مسئول: دکتر فرخنده بهجتی، استادیار ژنتیک پزشکی و عضو هیات علمی،
آدرس الکترونیکی:f_behjati@uswr.ac.ir

چکیده

اتیولوژی عقب ماندگی ذهنی هتروژن بوده و اکثرا علت ژنتیکی دارد.
ناهنجاریهای کروموزومی علت ٤-۲۸ در صد کلیه عقب ماندگی های ذهنی است. اکثر ناهنجاریهای کروموزوم نوع اتوزومی غیر متعادل باعث عقب ماندگی ذهنی می شوند
نواحی انتهایی کروموزوم ها غنی از ژن می باشند ومطالعات مختلف دلالت برآن دارند که ناهنجاریهای این نواحی می توانند یکی از عوامل اصلی ایجاد عقب ماندگی ذهنی باشند.
در این پژوهش با استفاده از روش هیبریداسیون فلورسانس درمحل ناهنجاری های ساب تلومریک کروموزومی در۱۳ نمونه واجد کاریوتایپ نرمال مورد بررسی قرار گرفتند. بیماران انتخاب شده دارای ضریب هوشی کمتر از ۷۰ ونیمی از بیماران فاقد دیسمورفیسم سندرم ژنتیکی خاصی بودند
نتایج آزمایش برای ۱۱ نفر نرمال بود در حالیکه ۲ نفر (۱۵٪) ناهنجاری ساب تلومریک نشان دادند. در بیماراول انتهای بازوی کوتاه هر دو همولوگ کروموزوم ۲۰ با پروب ویژه ساب تلومریک بازوی بلند ۱۹ سیگنال مثبت نشان داد. و بنابراین بیمار برای ناحیه ساب تلومریک بازوی بلند کروموزوم ۱۹ تترازومی می باشد. در بیمار دیگر انتهای بازوی کوتاه کروموزوم ۱۷ یا ۱۸ با پروب ویژه ساب تلومریک بازوی بلند کروموزوم ۹ سیگنال مثبت نشان داد. در نتیجه این بیمار برای ناحیه ساب تلومریک بازوی بلند کروموزوم ۹ تریزومی می باشد .

واژه های کلیدی

عقب ماندگی ذهنی با علت نامشخص ،
ناهنجاریهای کروموزومی ،
ساب تلومریک ،
FISH

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-06]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1387.3.3.2.3]

مقدمه

حداقل ۶۰٪ علل عقب ماندگی ذهنی (MR) حاد منشا ژنتیکی داشته وعلت آن نقص درژنها وکروموزوم هاست (۱) یکی ازمشکلات مطرح درعقب ماندگی ذهنی این است که منشا دقیق آن دراکثرمواردهنوز ناشناخته است. نقص های کروموزومی در۲۸-٤ ٪ وعوامل محیطی در ۳۰-۱۰٪ مواردبه عنوان عامل مشخص شده است (۲). ناهنجاریهای کروموزومی مهمترین علت عقب ماندگی ذهنی درانسان شناخته شده است.(۳).به دلیل انکه معمولا خطر تکراربرای فرزندان این افرادنسبت به افرادجامعه بالاتراست منطقی است که فاکتورهای ژنتیکی رادرموارد عقب ماندگی ذهنی فاقدعلت مشخص، دخیل بدانیم (٤,5).

نواحی ساب تلومریک نزدیک انتهای کروموزومها(تلومر)واقع می باشند. این نواحی دارای ژنهای گوناگون و متنوعی بوده و ازنظرنسخه برداری فوق العاده فعال می باشند. به خاطر ساختار وعملکرد منحصربفرد مناطق ساب تلومری، پیشنهادگردیده عدم توازنی که این نواحی رادرگیرکندممکن است ازعوامل مهم درایجاد عقب ماندگی های ذهنی باعلت ناشناخته(IMR) باشد(۳).

تحقیقات اخیر نشان ازآن دارند که تقریبا در۳۵-٤٪ بیماران باعقب ماندگی ذهنی بدون علت مشخص نواحی ساب تلومریک نوارائی یا فته اند(۳).

نوآرائی های نواخی ساب تومریک کروموزومی اغلب با استفاده ازروش های کاریوتیپ استاندارد مشخص نمی گردد چراکه دراین روش ها حساسیت کافی برای نشان دادن ناهنجاریهای های کمترازMb4 وجودندارد(٦)،ودر این گونه مواردبایستی ازتکنیک های سیتوژنتیک مولکولی ازجمله روش هیبریداسیون درمحل فلوئورسنت (FISH)استفاده نمود (۷).

بااستفاده ازپروبهای ساب تلومریک چندین سندرم جدید شناسایی شده اند: بعنوان مثال سندرم حذف 1p36 (۸) ,سندرم حذف 22q13.3(۹) وچندین ناهنجاری اوتیسم(۱۰) درارتباط باناهنجاریهای ساب تلومریک کروموزومی شناسایی شده اند. دراین تحقیق ۱۳ نفرعقب مانده ذهنی واجد کاریوتایپ طبیعی و فاقد علایم کلینیکی و ژنتیکی سندرمهای شناخته شده ای مثل سندرم Down ،Prader-Willi ، DiGeorge ، Fragile X وغیره (که با عقب ماندگی ذهنی همراه می باشند) انتخاب شدند، و با استفاد از پروبهای مخصوص ساب تلومریک وبکارگیری میکروسکوپ فلوئورسانس، نواحی کروموزومی ساب تلومریک آنهامورد بررسی قرارگرفتند.

مواد و روش‌ها

FISH یک روش سیتوزنتیک مولکولی برای ردیابی و تعیین جایگاه دقیق توالی های نوکلئوتیدی به کمک مواد نشاندار شده با ترکیبات فلئورسنت است برای اجرای این روش مراحل زیر انجام گرفت

کشت و هاروست خون محیطی

تمامی مراحل کشت و هاروست مطابق استانداردهای بین المللی عمل شده است (۱۱)سوسپانسیون حاصل از این مرحله جهت استفاده در فرایند دو رگه سازی ،در ۲۰- درجه سانتیگراد ذخیره شدند.

هیبریداسیون فلورسانس درمحل، تکنیک Chromoprobe Multiprobe- T System

کیت این پروب از شرکت Cytocell کشور انگلستان تهیه گردید. در این مرحله از سوسپانسیون آماده از مرحله کشت و هاروست استفاده گردید. آماده سازی لام موسوم به Chromoprobe Multiprobe template slide مطابق بروشور شرکت Cytocell که به همراه کیت ارسال شده بود انجام گردید.

بررسی میکروسکوپی لام

برای بررسی سیگنالها از میکروسکوپ **فلوئورسانس** واجد فیلترهای DAPI، FITC و Texas Red و نرم افزار Applied Imaging برای سیستم FISHاستفاده گردید.

نتایج و بحث

در مجموع ۱۳ بیمار عقب مانده ذهنی مورد بررسی قرار گرفتند. والدین ۵ نفر از آنها، ازدواج غیرخویشاوندی و ۸ نفر ازدواج خویشاوندی داشتند.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-06]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1387.3.3.2.3]

دامنهٔ سنی بیماران ۳۲-۱۵ سال بود و به غیر از یک نفر، بقیه پسر بودند. کلیه بیماران مبتلا به MR و ۵۰ درصد آنها بدون هیچ علامت دیسمورفیک بودند.کاریوتیپ همه طبیعی بود.

نتایج ساب تلومریک FISH

نتایج آزمایش برای ۱۱ بیمار نرمال بود در حالیکه ۲ نفر (۱۵٪) به شرح زیر ناهنجاری نشان دادند(جدول۱):

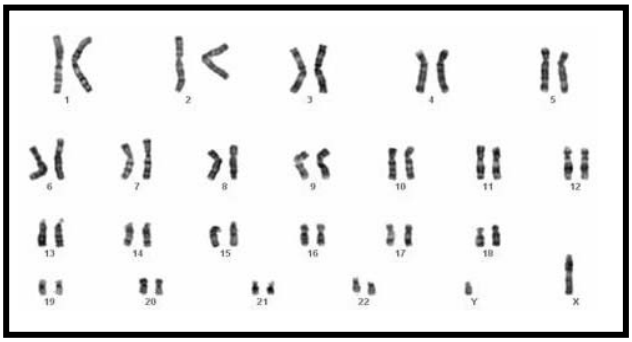
جدول ۱ : لیست بیمارانی که برای ساب تلومریک FISH غیرطبیعی بودند

شماره	Family Code	Karyotype	وضعیت سیگنال برای ساب تلومریک FISH
۱	۸۶۰۰۰۶۸	46,XY,ish der(20)?t(19;20)(qter;pter)x2	19q with 20px2: dup(19qter)x2
۲	۸۶۰۰۰۷۳	46,XY,ish der(17or18)?t(9;17or18)(qter;pter)	9q with 17p or 18p: dup(9qter)

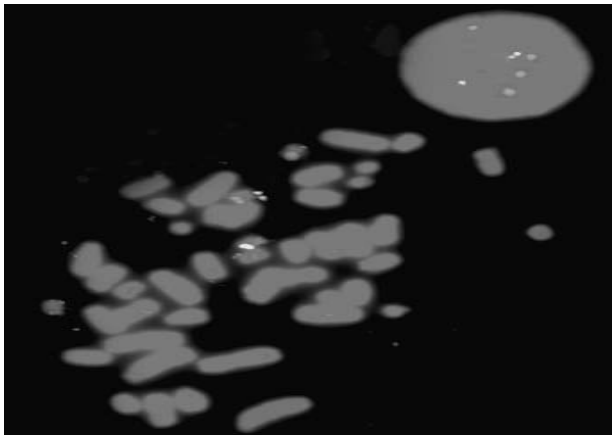
علامت سوال یعنی چه?t(19;20) در مورد اول ترانسلوکاسیون ممکن است نباشد و بایستی با پروب های ویژه تایید گردند. در مورد دوم کروموزوم های ۱۷ و ۱۸ را نمی توان از هم تشخیص داد و با پروب های ویژه شان بایستی مشخص گردند(در کارهای تکمیلی).

۱- بیمار ۸۶۰۰۰۶۸

دراین بیمارانتهای بازوی کوتاه هر دو همولوگ کروموزوم ۲۰ با پروب ویژه ساب تلومریک بازوی بلند ۱۹ سیگنالی مثبت نشان داد. (شکل ٦). بنابراین این بیمار تترازومی برای ناحیه ساب تلومریک بازوی بلند کروموزوم ۱۹ می باشد. والدین این فرد ازدواج خویشاوندی داشتند.



شکل۱ : کاریوتیپ طبیعی بیمار ۸۶۰۰۰۶۸ توسط نرم افزار Cytovision

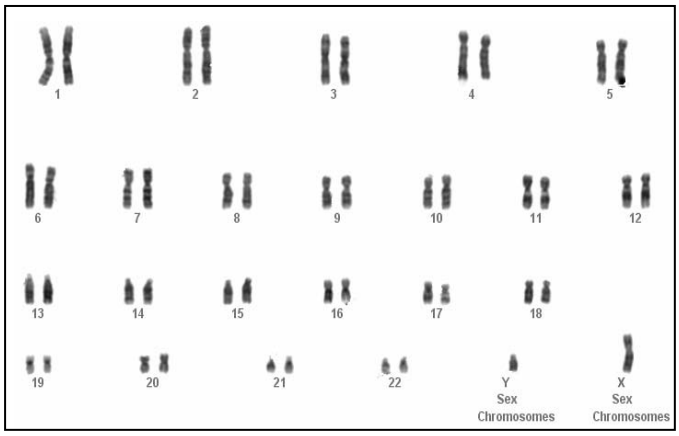


شکل ۲ : تصویر ساب تلومریک FISH برای 19q و 19p از متافاز سلول در بیمار ۸۶۰۰۰۶۸: درشکل فوق ملاحظه می گردد علاوه بر سیگنالهای طبیعی مربوط به دو کروموزوم ۱۹،بر روی بازوی کوتاه هر دو کروموزوم ۲۰ هم سیگنال قرمز دیده می شود.

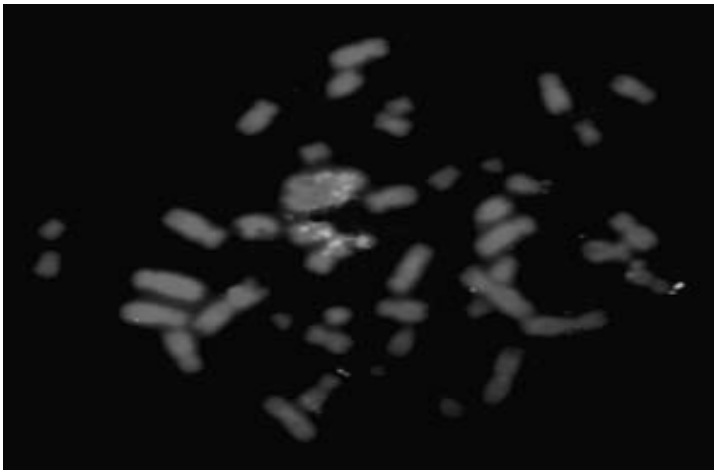
۲-بیمار۸۶۰۰۰۷۳:

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1387.3.3.2.3]

در این بیمار انتهای بازوی کوتاه کروموزوم ۱۷ یا ۱۸ با پروب ویژه ساب تلومریک بازوی بلند کروموزوم ۹ سیگنال مثبت نشان داد (شکل۷). بنابراین این بیمار تریزومی برای ناحیه ساب تلومریک بازوی بلند کروموزوم ۹ می باشد.والدین این فرد ازدواج خویشاوندی داشتند.



شکل ۳ : کاریوتیپ طبیعی بیمار ۸۶۰۰۰۷۳



شکل ٤:تصویرساب تلومریک FISH برای 9q و9p از متافازسلول در بیمار ۸۶۰۰۰۷۳:
مشاهده می گرددعلاوه بر سیگنالهای مربوط به کروموزومهای ۹ انتهای بازوی کوتاه کروموزوم ۱۷ یا ۱۸ با پروب ویژه ساب تلومریک بازوی بلند کروموزوم ۹ سیگنال مثبت نشان داد ه است.

این دو بیمار از دو خانواده مختلف با ازدواج خویشاوندی و فاقد دیسمورفیسم بودند.

مطالعات متعددی ناهنجاریهای ساب تلومریک را در بیماران مبتلا به عقب ماندگی ذهنی با و یا بدون دیسمورفیسم نشان داده اند. جالب توجه است که هر دو مورد ناهنجاریهای ساب تلومریک مشاهده شده در مطالعه ما از نوع دوپلیکاسیون بودند و هیچگونه حذفی وجود نداشت. درموردبیمار ۸۶۰۰۰۷۳ مطالعات ساب تلومریک FISH نشان داد که یک کپی اضافی از ناحیه ساب تلومریک بازوی بلند کروموزوم ۹ به انتهای بازوی کوتاه کروموزوم ۱۷یا۱۸ اضافه گردیده است. به عبارت دیگر این بیمار دارای تریزومی جزئی برای انتهای بازوی بلند کروموزوم ۹ می باشد. در مطالعه ای که توسط Ravnan و همکاران صورت

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-06]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1387.3.3.2.3]

گرفت در ۵ بیمار دوپلیکاسیون ساب تلومریک 9q مشاهده گردید که همه این موارد همزمان حذف نواحی ساب تلومریک 13p,7q,8p,15q,17p را داشتند.(12) مورد دوپلیکاسیون ناحیه ساب تلومریک 9q حذف ناحیه ساب تلومریک 17p را داشت و واجد آنومالی های متعدد از جمله CHD,DGS/VCFS و هیپوتونیا بود.مادر پروباند واجد ترانسلوکاسیون متعادل بین کروموزوم های ۹ و ۱۷ بود. بیمار ۸٦۰۰۰۷۳ نیز دوپلیکاسیون ناحیه ساب تلومریک 9q را دارد ولیکن ناحیه 17p یا 18p حذف نشده است (از کجا میدانیید خذف نشده است؟ اگر پروب سابتلومریک کروموزوم ۱۷ و یا ۱۸ را استفاده کرده اید چرا بین این ۲ کروموزوم شک دارید؟ توضیح داده شود. زیرا سیگنال های ۱۷p و۱۸p در خانه های مربوطه وجود داشتند.

بیمار ۸٦۰۰۰٦۸ عقب ماندگی ذهنی متوسط داشت و دارای رفتار تهاجمی بدون علامت خاص دیسمورفیک بود.

مطالعات ساب تلومریک FISH نشان داد که یک کپی اضافی از ناحیه ساب تلومریک بازوی کوتاه کروموزوم ۱۹ به انتهای بازوی بلند هر دو همولوگ کروموزوم ۲۰ اضافه گردیده است. بنابراین این بیمار دارای تترازومی برای انتهای بازوی کوتاه کروموزوم ۱۹ می باشد. در مطالعه Ravnan و همکاران (۹) چهار بیمار دوپلیکاسیون ناحیه ساب تلومریک 19q را داشتند. این بیماران همجنین واجد حذف ناحیه ساب تلومریک برای 19p,15p,7p,12p بودند. در مطالعه دیگری توسط Ruiter و همکاران(13) در یک بررسی cohort ٦۲٤ بیمار عقب مانده ذهنی همراه یا بدون دیسمورفیسم مورد بررسی قرار گرفتند. ۱۱ بیمار واجد دوپلیکاسیون و بدون هیچگونه حذفی بودند. از جمله یک مورد دوپلیکاسیون ناحیه ساب تلومریک 9q وجود داشت.

برای اینکه مشخص گردد که دو مورد ناهنجاری ساب تلومریک در این پژوهش پاتوژنتیک بوده و علت اصلی عقب ماندگی ذهنی در بیماران می باشند بایستی والدین آنها مورد بررسی قرار گیرند(چرا انجام نشده است؟).بناست در یک طرح تکمیلی انجام گیرد زیرا بودجه طرح تمام شده بود! در صورتیکه آنها فاقد این ناهنجاری باشند، این اختلال می تواند ساب تلومریک پاتوژن باشد.

تشکر و قدردانی :

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی که با پشتیبانی و حمایت های مالیشان انجام این پژوهش را امکان پذیر نمودند. کمال تشکر و امتنان را داریم.

منابع

1-Moser HG (1995). "A role for gene therapy in mental retardation" Mental retardation and Developmental Disabilities. Research Reviews: Gene Therapy,1:4-6.

2-Phelan MC;Crawford EC,Bealer DM (1996).Mental retardation in south Carolina III Chromosome aberration.proc Green genet Cancer,15:45-60.

3-Gopalrao V.N. Velagaleti, Salty S Robinson, Bobby M. Rouse, Vijay S. Tonk, and Lillian H.lLockhart, (2005), "Subtelomeric Rearrangments in idiopathic Mental Retardation", Indian Journal of Pediatrics, Volume 72-August,2005

4-Markus Hengstschlager, Andrea Prusa, Christa Repa, Josef Deutinger, Arnold Pollak, and Gerhard Bernschek, (2005),"Subtelomeric Rearrangments as Neutral Genomic Polymorphisms, American Journal of Medical Genetics 133A:48-52

5-Marie Sogaard, Zeynep Tumer, Helle Hjalgrim, Johanne Hahnemann, Birgitte Friis, Paal Leddal, Vibeke Faurholt Pedersen, Peter Baekgaard, et al, (2005), "Subtelomeric study of 132 patients with mental retardation reveals 9 chromosomal anomalies and contributes to the delineation of submicroscopic deletions of 1pter, 2qter, 4pter, 5qter and 9qter", BMC Medical Genetics, 6:21 doi:10.1186/1471-2350-6-21

6-Knight SJL, Flint T (2000). Perfect endings: a review of Subtelomeric probes and their use in clinical diagnosis. JMG, 37(6): 401-409

7-Yao-shan Fan (2002). "Molecular cytogenetics in Medicine.From methods in molecular Biology". Vol 204 molecular cytogenetics: protocols and Aplications. Human Press. Totowa, NJ

8-Helistedt HA; Ballif BC;Howard LA, et al (2003). population data suggest that deletions of 1p36 and a relatively common chromosome abnormality. Clin Genet;64(4):310-6.

9-luciani JJ , de Mas p, Depetris D, et al (2003) Telomeric 22q13 deletions resulting from rings, simple deletions, and translocations: cytogenetics, molecular and clinical analysis of new observations. J.Med Genet;40(9):690=6.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1387.3.3.2.3]

10-Wolff DJ, Clifton K, Karr C,Charlesy (2002) Pilot assessment of the subtelomeric regions of children with autism: deletion of a 2q deletion. Genet Med;4(1):10-4

۱۱-Rooney DE (2001). Human Cytogenetics constitutional analysis. Third edition, Oxford Univercity press.

۱۲-Ravan JB, Tapperberg JH, Papenhausen P, Lamb AN, Hedrick J, Eash D, Ledbetter DH, Martin. (2006). Subtelomere FISH analysis of 11688 cases: an evaluation of the frequency and pattern of subtelomere rearrangements in individuals with developmental disabilities. J Med Genet, 43: 478-489.

13-Ruiter EM, Koolen DA, Kleefstra T, Nillesen WM, Pfundt R, de Leeuw N, Hamel BCJ, Brunner HG, Sistermans EA, de Vries BBA. (2007). Pure subtelomeric microduplications as a cause of mental retardation. Clin Genet: 72: 362-368.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-06]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1387.3.3.2.3]