

بررسی ناهنجاری‌های کروموزومی و هترومورفیسم‌های موجود در ۱۴۰ زوج دارای سقط مکرر خودبخودی و مقایسه آن با افراد کنترل

عاطفه عسگری^{*}، زهرا نور محمدی^۲، صفیه قهرمانی^۳، سولماز سعیدی^۴، ابراهیم کامرانی^۵

۱ و ۲- به ترتیب کارشناس ارشد و دکتری ژنتیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات
تهران

۳، ۴ و ۵- کارشناس ارشد، کارشناس و کارشناس ژنتیک، آزمایشگاه سیتوژنتیک، بیمارستان
شهید بهشتی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، ایران.

^{*}نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: asgari.atefeh@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۸۹/۱۲/۱۵ - تاریخ پذیرش: ۹۰/۷/۵)

چکیده

شیوع ترانسلوکاسیون‌های کروموزومی متعادل و ناهنجاری‌های کروموزومی در زوجین دارای سقط‌های مکرر از صفر درصد تا ۳۱ درصد می‌باشد تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که بررسی سقط‌های مکرر خودبخودی برای ثابت کردن احتمال وجود ترانسلوکاسیون‌های متعادل در والدین می‌تواند مفید باشد. در مطالعه حاضر تعداد ۲۵ زوج دارای ۳ سقط و بیشتر و ۶۵ زوج دارای ۲ سقط که همه آن‌ها دارای سقط در سن بارداری زیر سه ماه بوده‌اند بررسی شدند که از طرف پژوهش متخصص زنان جهت بررسی‌های سیتوژنتیکی به آزمایشگاه ژنتیک بیمارستان شهید بهشتی همدان ارجاع داده شده بودند و همچنین کاریوتیپ ۴۰ فرد بدون سابقه سقط جنین و دارای باروری طبیعی را به عنوان گروه کنترل در مقایسه با هر یک از گروه‌ها مورد بررسی و تحقیق قراردادیم. روش مورد استفاده در این تحقیق GTG باندینگ (رنگ‌آمیزی باندینگ) با استفاده از گیمسا و ترپیسین) می‌باشد. فراوانی ناهنجاری‌های کروموزومی و هترومورفیسم‌ها بین زوجین دارای ۳ سقط و بیشتر به ترتیب ۵/۳ درصد و ۹/۳ درصد گزارش گردید همچنین فراوانی ناهنجاری‌های کروموزومی بین زوجین دارای ۲ سقط ۳/۰۷ درصد و فراوانی هترومورفیسم‌های کروموزومی آن‌ها ۶/۱۵ درصد مشخص گردید. بررسی افراد کنترل فراوانی هترومورفیسم‌های کروموزومی ۷/۵ درصد را نشان داد و هیچ‌گونه ناهنجاری‌های کروموزومی در افراد کنترل مشاهده نشد. این نتایج در برگیرنده این مطلب است که وجود ناهنجاری‌های کروموزومی یکی از دلایل سقط‌های مکرر خودبخودی می‌باشد که با افزایش این سقط‌ها احتمال وجود این ناهنجاری‌ها افزایش می‌باشد همچنین به دلیل وجود هترومورفیسم‌های کروموزومی در افراد جمعیت عمومی که بدون عالیم بالینی سقط هستند وجود هترومورفیسم‌های کروموزومی را نمی‌توان دلیل ایجاد سقط‌های مکرر خودبخودی دانست.

واژه‌های کلیدی

افراد کنترل،
ترانسلوکاسیون،
سقط مکرر،
هترومورفیسم.

مقدمه

بطورکلی از دست رفتن حاملگی بدون مداخله بیرونی قبل از هفته ۲۰ حاملگی را سقط خودبخودی می‌نامند. سقط‌های مکرر خودبخودی در انسان یک پدیده عمومی است و ناهنجاری‌های بزرگ سیتوژنتیکی یکی از دلایل مهم آن می‌باشد (۱، ۲). برای اولین بار Carr در سال ۱۹۶۰ گزارش کرد که تقریباً ۵۰ درصد از سقط‌های سه ماهه اول به دلیل ناهنجاری‌های ساختاری یا عددی کروموزوم‌ها می‌باشد (۲).

جنین بودند که توسط این پزشک شناسایی و جهت بررسی بیشتر به آزمایشگاه سیتوژنتیک ارجاع داده شده اند. این افراد دارای تعداد سقط‌ها و شرایط متفاوتی بودند که جهت بررسی رابطه بین تعداد سقط‌ها و فراوانی ناهنجاری‌های کروموزومی، این زوجین را به دو دسته زوجین دارای سه سقط و بیشتر و زوجین دارای دو سقط تقسیم کردیم در این زوجین فقط تعداد سقط‌های پی در پی مورد بررسی قرار می‌گرفت. سپس فرم حاوی سوالات تحقیق از زوجین تکمیل شد و بعد از اعلام رضایت آن‌ها جهت شرکت در این تحقیق نمونه‌گیری از آنها انجام شد. جهت تجزیه کروموزومی از کشت لنفوцит‌های خون محیطی این افراد استفاده شد. روش مورد استفاده در این تحقیق GTG باندینگ (رنگ‌آمیزی باندینگ با استفاده از گیمسا و تریپسین) می‌باشد. از ۶۵ بیمار که به علت دو سقط پی در پی مراجعه کرده بودند تعداد ۴ نفر (۶/۱۵ درصد) دارای هترومورفیسم‌های کروموزومی و ۲ نفر (۳/۰۷ درصد) دارای ناهنجاری کروموزومی بودند. همچنین از ۷۵ زوج دارای سه سقط و بیشتر تعداد ۷ نفر (۹/۳ درصد) دارای هترومورفیسم‌های کروموزومی و ۴ نفر (۵/۳ درصد) دارای ناهنجاری‌های کروموزومی بودند. انواع ناهنجاری‌های کروموزومی مشاهده شده با مشخص شدن تعداد سقط‌ها و تعداد فرزندان آن‌ها در (جدول ۱) نشان داده شده است. همچنین انواع هترومورفیسم‌های مشاهده شده به تفکیک تعداد سقط‌های آن‌ها در (جدول ۲) نشان داده شده است. در مطالعه زوجین از نظر مقایسه وضعیت کروموزومی بین مردان و زنان $P=0.023$ بود که از نظر آماری معنی‌دار است ($P \leq 0.05$) و نشان می‌دهد که ناهنجاری کروموزومی بین زنان بیشتر از مردان است. در بررسی دیگر که از نظر مقایسه فراوانی وجود ناهنجاری‌های کروموزومی در افراد دارای سقط‌های جنین مکرر با افرادی که سابقه سقط جنین ندارند انجام گرفت مقدار $P=0.05$ بود ($P \leq 0.05$) که رابطه‌ای معنادار است و این نشان دهنده رابطه سقط جنین با احتمال وجود ناهنجاری‌های کروموزومی است. همچنین در مطالعه‌ای که جهت بررسی وجود یا عدم وجود رابطه بین تعداد سقط‌ها و فراوانی ناهنجاری‌های موجود در این زوجین انجام شد مشخص شد که بین این دو پارامتر رابطه معناداری وجود دارد ($P=0.05$) و این نشان دهنده این مطلب است که با افزایش تعداد سقط‌ها احتمال وجود

در مطالعات دیگری مشخص شده جنین‌هایی که در سه ماهه دوم بارداری دفع می‌شوند دارای ۵۰ درصد ناهنجاری می‌باشند (۳،۴). تخمین ناهنجاری‌های کروموزومی، نشان می‌دهد که اگر یک تفاوت محیطی وجود نداشته باشد شیوع آن در همه حاملگی‌ها یکسان است. هنوز هیچ فاکتوری که روی فراوانی این بقا و مرگ و میر اثر داشته باشد شناخته نشده است. ناهنجاری‌های متعادل کروموزومی قابل ارت در حالی که باعث ایجاد هیچ علائمی در ظاهر افراد نمی‌شود می‌تواند به مقدار زیادی روی جمعیت اثر بگذارد و باعث غربال مکانیسم سقط و مرگ پیش از تولد شود (۳،۷). رهنمود رایج برای مدیریت سقط‌های خودبخودی پیشنهاد تجزیه کروموزومی در هر دو والد است (۸،۹). به طور رایج مشاوره زوج‌ها درباره خطر آن‌ها برای داشتن فرزندی که دارای ناهنجاری کروموزومی است عمدتاً بر پایه تخمین‌های تجربی خطر و براساس تاریخچه تولید مثلی یا هر دوی آن می‌باشد (۱۰،۱۱). همچنین اصطلاح پلی مورفیسم به رخداد دو یا چند شکل مختلف در اعضاء یک ارگانیسم یا افراد یک گونه گفته می‌شود و پلی مورفیسم‌های کروموزومی به چند شکلی‌های آن که به صورت عمومی در جمعیت وجود دارد گفته می‌شود. در سیتوژنتیک بیشترین وارینت‌ها در ساتلاتیت‌ها و بازوی‌های کوتاه کروموزوم‌های آکروسانتریک دیده می‌شود که شامل افزایش یا کاهش در مقدار هتروکروماتین بازو بلند کروموزوم‌های (۹) inv,Y, ۱، ۱۶، ۹ می‌باشد (۱۶). این تنوع عموماً هترومورفیسم نامیده می‌شود زیرا اصطلاح پلی مورفیسم به وسیله ژنتیسین‌ها به تنوع قابل توارث که دارای فراوانی کمتر از یک درصد در جمعیت هستند محدود شده است (۱۳). این تحقیق یک مطالعه توصیفی مقطعی می‌باشد که در آن تعداد ۷۵ زوج دارای سه سقط و بیشتر و ۶۵ زوج دارای دو سقط که همگی آن‌ها دارای سقط در سن بارداری زیر سه ماهگی بوده‌اند و ۴۰ فرد کنترل مورد بررسی قرار گرفته‌اند و نتایج هر گروه به صورت جداگانه با نتایج بدست آمده از افراد کنترل مورد مقایسه قرار گرفتند. این مطالعه با هدف بررسی ناهنجاری‌های کروموزومی و هترومورفیسم‌های موجود بین زوجین دارای سقط مکرر و مقایسه آن با افراد کنترل صورت گرفته است. جمعیت مورد مطالعه مراجعین به پزشک متخصص زنان و زایمان به دلیل مشکل سقط

در صد) دارای کاریوتیپ نرمال بودند و در بین این افراد هیچ‌گونه کاریوتیپ دارای ناهنجاری‌های کروموزومی مشاهده نشد. به طورکلی این تحقیق فراوانی ناهنجاری‌های کروموزومی را بین زوجین دارای دو سقط $3/07$ در صد و بین زوجین دارای سه سقط و بیشتر $5/3$ در صد اعلام می‌کند که این نشان می‌دهد که با افزایش تعداد سقط‌ها احتمال وجود ناهنجاری‌های کروموزومی در زوجین افزایش می‌یابد و لزوم بررسی‌های سیتوژنتیکی والدین بیشتر احساس می‌شود. همچنین با توجه به نزدیک بودن فراوانی وجود هترومورفیسم در زوجین دارای سقط مکرر به افراد کترل نمی‌توان وجود هترومورفیسم‌ها را در این افراد دلیلی برای ایجاد سقط جنین معرفی کرد. (جدول ۳)

ناهنجاری‌های کروموزومی در زوجین دارای سقط افزایش می‌یابد. همچنین در مقایسه‌ای که از نظر فراوانی وجود هترومورفیسم‌های کروموزومی بین افراد کترل (افراد بدون سابقه سقط) و افراد دارای سقط‌های جنین مکرر صورت گرفت ($P=0.05 \leq P \leq 0.114$) که از نظر آماری معنی دار نبود و این نشان می‌دهد که رابطه‌ای بین ایجاد سقط جنین و وجود هترومورفیسم‌های کروموزومی وجود ندارد.

همینطور در این تحقیق تعداد ۴۰ نفر مراجعه کننده که دارای هیچ علائم بالینی نبودند و به صورت داوطلبانه خواستار تعیین کاریوتیپ خود بودند به عنوان افراد کترل مورد بررسی قرار گرفتند که از بین این ۴۰ نفر فقط سه نفر ($7/5$ در صد) از این افراد دارای هترومورفیسم‌های کروموزومی بودند و ۳۷ نفر ($92/5$)

جدول ۱- انواع ناهنجاری‌های کروموزومی و تعداد سقط‌های مشاهده شده در زوجین دارای سقط‌های مکرر

ناهنجاری‌های کروموزومی	سن	تعداد سقط	تعداد فرزندان های مکرر	تعداد فرزندان ناهنجار
46 , XX , t (13;15) (q10;q10)	۲۴	۳	.	.
46 , XY , t (7;21) (q 11.2;q 22)	۲۷	۳	.	.
46 , XX , t (8;19) (q 24.1;q 13.1)	۲۳	۳	.	.
46 , XX , t (13;15) (q10; q10)	۲۵	۳	.	.
46 , XX , t (1;12) (p22;q13)	۲۵	۲	.	.
46 , XY , t (7;21) (q 11.2;q 22)	۲۵	۲	.	.

جدول ۲- انواع هترومورفیسم‌های کروموزومی با مشخص شدن تعداد سقط‌ها و فرزندان آن‌ها

هترومورفیسم‌های کروموزومی	سن	تعداد سقط	تعداد فرزندان های مکرر	تعداد فرزندان ناهنجار
46 , XX , 16qh+	۲۳	۳	.	.
46 , XX , inv (9) (p11q13)	۳۴	۳	۱	۱
46 , XX , inv (9) (p11q13)	۲۴	۳	.	۱
46 , XX , inv (9) (p11q12)	۲۷	۳	.	.
46 , XY , inv (9) (p11q13)	۳۱	۳	.	.
46 , XY , 15ph+	۲۵	۳	.	.
46 , XX , 22stk+	۲۸	۳	.	.
46 , XX , 16qh+	۲۳	۲	.	.
46 , XX , inv (9) (p11q13)	۱۷	۲	.	.
46 , XX , inv (9) (p11q12)	۲۰	۲	.	.
46 , XX , 16qh+	۳۷	۲	.	.

جدول ۳- زوجین به تفکیک تعداد سقطها و فراوانی ترانسلوکاسیون‌های متعادل در آن

تعداد زوج‌ها	تعداد سقط‌های مکرر	تعداد ترانسلوکاسیون‌های متعادل
۶۵	۲	۲(۳/۰۷%)
۶۰	۳	۴(۶/۶%)
۱۲	۴	.
۳	۵≥	.

جدول ۴- هترومورفیسم‌های مشاهده شده در افراد کترل

وضعیت کروموزومی	سن	جنس
46 , XX ; 21 PS+	۱۸	زن
46 , Xy ; 1 qh+	۲۴	مرد
46 , XX ; inv 9(p11 q13)	۲۰	زن

ساخته است برای مثال در مطالعه‌ای دیگر زوج‌های که تنها سقط داشتند در نظر گرفته نشده بود (۱۵). در مطالعه‌ای دیگر نیز ترانسلوکاسیون کروموزومی بین ۲۰۰ زوج مورد بررسی قرار گرفته و فراوانی ترانسلوکاسیون متعادل در آن ۳/۶ درصد گزارش شده است (۶) در این مطالعه این زوج‌ها در یک کلینیک ژنتیک بررسی شده بودند بعد یا در طی ارزیابی متخصص زنان به آزمایشگاه سیتوژنتیک ارجاع داده شده بودند که این شبیه روشی است که در مطالعه ما مورد استفاده قرار گرفته است. آن‌ها همچنین زوجین دارای کودکی که دارای ناهنجاری‌های کروموزومی یا تولد بچه مرده بودند را مستثنی شده بودند. آن‌ها زوج‌ها را بر اساس تعداد سقط‌ها مرتب کرده بودند که در مطالعه ما نیز این امر انجام شد تفاوتی که این با مطالعه ما داشت این بود که در این مطالعه رخداد سقط در هر زمانی در طی تاریخچه تولید مثلی زوج‌های مربوطه است و سقط‌های پی‌درپی بررسی نشده در صورتی که در مطالعه ما تنها تعداد سقط‌های پی‌درپی مورد بررسی قرار گرفت. نهایتاً مطالعه ما موافق با چندین مطالعه قبلی است که نشانده یک افزایش تعداد در ترانسلوکاسیون متعادل کروموزومی در زوجین دارای دو یا بیشتر سقط نسبت به جمعیت عمومی است همچنین مشخص شد که با افزایش تعداد سقط‌ها احتمال وجود ناهنجاری‌های کروموزومی افزایش می‌یابد. بجز ناهنجاری‌های کروموزومی، بدشکلی‌های رحمی، اختلالات هورمونی و عفونت‌ها نیز می‌تواند مسبب ایجاد سقط جنین باشد. بنابراین دو یا بیشتر سقط مکرر می‌تواند دلیلی برای بررسی‌های سیتوژنتیکی این والدین باشد.

در مطالعه ما در صد ترانسلوکاسیون در افراد دارای دو سقط ۳/۰۷ درصد و در افراد دارای سه سقط و بیشتر ۵/۳ درصد بود همچنین در صد هترومورفیسم‌های کروموزومی موجود در زوجین دارای دو سقط ۶/۱۵ درصد و این در صد در زوجین دارای سه سقط و بیشتر ۹/۳ درصد می‌باشد. لازم به ذکر است که ما در این مطالعه با هیچ نوع ناهنجاری ساختاری دیگر و یا ناهنجاری‌های تعدادی برخورده‌ایم و موارد ناهنجاری مشاهده شده در این بیماران فقط شامل ترانسلوکاسیون‌ها می‌باشد. در افراد کترل نیز تعداد ۳ نفر از ۴۰ فرد کترل (۷/۵ درصد) دارای هترومورفیسم‌های کروموزومی بودند و هیچ گونه ناهنجاری‌های کروموزومی بین آن‌ها مشاهده نشد. هترومورفیسم‌های مشاهده شده در افراد کترل در جدول ۴ آورده شده است. این نتایج تقریباً با یافته‌های محققین در دیگر مراکز تحقیقاتی مطابقت دارد به همین دلیل به نظر می‌رسد که اختلاف نژادی در این خصوص تاثیر معنی‌داری ندارد. با این وجود اختلافاتی در درصدهای معرفی شده در تحقیقات مختلف در مناطق مختلف دنیا به چشم می‌خورد. به همین دلیل لازم به نظر می‌رسد که در مناطق مختلف جغرافیای احتمال شیوع این ناهنجاری‌ها به‌طور جداگانه مورد بررسی قرار گیرد اختلافات موجود در فراوانی‌های گزارش شده می‌تواند به دلیل تفاوت در روش بررسی مورد تحقیق نیز باشد. مثلاً خیلی از این مطالعات گروه‌های کترل جهت مقایسه با بیماران را نداشند یا این که تعداد صحیح سقط‌ها یا فرزندان ناهنجار در نظر گرفته نشده است (۱۴). از این نظر مقایسه مطالعات با را یکدیگر مشکل

منابع

1. Miller J, Williamson E, Glue J, Gordon YB, Grudzinskas JG, Sykes A(1980): Fetal loss after implantation: a prospective study. *Lancet* ii:554-556, 1980
2. Blumberg B, Shulkin J. (1982). Minor Chromosomal Variants and Major Chromosomal Anomalies in Couples with Recurrent Abortion. *Am J Hum Genet* 34:948-960
3. Alberman E.D., Creasy M.R. (1977). Frequency of Chromosomal Abnormalities in Miscarriages and Perinatal deaths. *Journal of Medical Genetics*, 1977, 14, 313-315.
4. Kajii T., Ohama K., Niikawa N.(1973). Banding Analysis of Abnormal Karyotypes in Spontaneous Abortion. *Am J Hum Genet* 25:539-547, 1973
5. Frepath R.J.W.(1976). Genetics and Disease. *Proc. roy. Soc. Med.* Volume 69 January 1976
6. Michels V., Medrano C.(1982). Chromosome Translocations in Couples with Multiple Spontaneous Abortions. *Am J Hum Genet* 34:507-513, 1982.
7. Franssen M, Korevaar J.(2006). Reproductive outcome after chromosome analysis in couples with two or more miscarriages: case-control study. *BMJ*. 2006 April 1; 332(7544): 759–763.
8. Martin R.H.(2008). Cytogenetic determinants of male fertility. *Hum Reprod Update*. 2008 Jul–Aug; 14(4): 379–390.
9. Warburton D, Kline J.(1987). Does the Karyotype of a Spontaneous Abortion Predict the Karyotype of a Subsequent Abortion?-Evidence from 273 Women with Two Karyotyped Spontaneous Abortions. *Am. J. Hum. Genet.* 41:465-483
10. Ferguson-Smith M. A., Ferguson-Smith M. E.(1975). Screening for Fetal Chromosome Aberrations in Early Pregnancy. *J. clin. Path.*, 29, Suppl. (Roy. Coll. Path.), 10, 165-176.
11. Dewhurst J.(1978). Fertility in 47,XXX and 45,X patients. *Journal of Medical Genetics*, 1978, 15, 132-135.
12. Ward BE, Henry GP, Robinson A(1980): Cytogenetic Studies in 100 Couples with Recurrent Spontaneous Abortions. *Am J Hum Genet* 32:549-554, 1980
13. Stenshever MA, Parks KJ, Daines TL, Allen MA, Stenchever MC(1997): Cytogenetics of Habitual Abortion and Other Reproductive Wastage. *Am J Obstet Gynecol* 127:143-150,1997
14. Kim HJ, Hsu Lyf, Paciuc S, Cristian S. Quintana A, Hirschhorn K(1975): Cytogenetics of Fetal Wastage. *N Engl J Med* 293:844-847, 1975
15. Schmidt R, Nitowsky HM, DAR H(1979): Cytogenetic Studies in Reproductive loss. *J Am Med Assoc* 236:369-373, 1976
16. Orlando J. Miller , Therman E(1997): Human Chromosomes . Springer , Fourth Edition 6:82