

## اختلالات تعدادی و ساختمانی کروموزومی در جنین‌های سقط شده با استفاده از کشت سلول‌های جنینی و رنگ آمیزی به روش جی تی جی - باندینگ

سید محمود طباطبانی<sup>۱\*</sup>، دکتر محمود رضا باغی نیا<sup>۲</sup>، دکتر منصور بیرامی<sup>۳</sup>، علی اکبر ملکی راد<sup>۴</sup>

۱- مربی، کارشناس ارشد ژنتیک، گروه علوم پایه پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران

۲- استادیار، متخصص اورولوژی، گروه اورولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

۳- استادیار، دکتر روان شناسی، گروه روان شناسی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۴- مربی، کارشناس ارشد فیزیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور مرکز شازند، شازند، ایران

تاریخ دریافت ۸۸/۳/۱۰، تاریخ پذیرش ۸۸/۵/۳

### چکیده

**مقدمه:** حدود ۱۵ تا ۲۰ درصد از بارداری‌ها به سقط جنین ختم می‌گردد. بیش از ۵۰ درصد سقط‌های مکرر در مادران باردار ۸ تا ۱۵ هفته مربوط به ناهنجاری‌های ژنتیکی است. از این میزان حدود ۹۵ درصد مربوط به اختلالات تعداد و ۵ درصد مربوط به اختلالات ساختمانی کروموزوم‌هاست. تاکنون هیچ کدام از اختلالات کروموزومی شناخته شده در انسان قابل درمان نبوده و تنها روش مقابله با این نوع اختلالات محدود به تشخیص پیش از تولد و سقط جنین‌های مبتلاست. هدف از این پژوهش تعیین انواع اختلالات کروموزومی با استفاده از روش‌های سیتوژنتیکی است.

**روش کار:** در این مطالعه مقطعی - تحلیلی اختلالات کروموزومی در ۵۶ جنین سقط شده جهت تعیین فراوانی آنها مورد مطالعه قرار گرفت. برای این منظور از کشت آمینون-کوربون، جفت، بافت جنینی و محصول کورتاژ جهت به دست آوردن سلول‌های متافازی از سلول‌های جنینی استفاده گردید.

**نتایج:** بعد از کشت، انجام کروموزوم تاییپینگ و جی تی جی - باندینگ در نهایت تریزومی ۲۱ با بیشترین فراوانی (۱۲/۵ درصد)، و ایزو کروموزومی ۲۱، ایزو کروموزومی X و نیز مونوزومی X هر کدام با فراوانی ۱/۸ درصد کمترین فراوانی را به خود اختصاص داد.

**نتیجه گیری:** نه تنها اختلالات کروموزومی در ایجاد سقط‌های مکرر نقش بسزایی دارد، بلکه از نظر میزان فراوانی انواع اختلالات کروموزومی نیز در مقایسه با سایر کشورها مشابهت وجود دارد. هم‌چنین روش‌های تشخیصی سیتوژنتیکی نظیر جی تی جی باندینگ در مورد والدین دارای سقط‌های مکرر به عنوان روشی قوی و قابل اطمینان به شمار می‌آید.

**واژگان کلیدی:** سقط مکرر، اختلالات کروموزومی، جی تی جی باندینگ

\*نویسنده مسئول: تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، دانشکده پزشکی

Email: smt1351@yahoo.com

## مقدمه

سقط (Abortion) به معنی پایان یافتن بارداری چه به صورت خودبه خود و چه به صورت عمدی، قبل از رسیدن جنین به تکامل کافی برای ادامه حیات است. به طور قراردادی سقط به پایان یافتن بارداری قبل از هفته ۲۰ بارداری اطلاق می‌گردد. در حالی که از دست رفتن بارداری بعد از هفته ۲۰ به عنوان مرده‌زایی یا تولد پیش از موعد در نظر گرفته می‌شود. اگر سقط بدون استفاده از عوامل مکانیکی به منظور تخلیه رحم رخ دهد به آن سقط خود به خودی یا (Spontaneous Abortion) گویند. معمولاً با هر سه سقط متوالی، خطر سقط خود به خودی به طور پیشرونده‌ای افزایش یافته (۲۴) و به حدود ۴۵-۳۰ درصد می‌رسد (۱).

خطر سقط خود به خودی با افزایش تعداد زایمان‌ها و نیز با بالا رفتن سن مادر و پدر نیز افزایش می‌یابد. عوامل ژنتیکی خصوصاً ناهنجاری‌های کروموزومی والدین و عوارض ترومبوتیک سندرم آنتی فسفو لیپید آنتی‌بادی علل عمده سقط‌های خود به خودی هستند، هر چند ممکن است نسبت دقیق بیماران مبتلا به اختلال تشخیص داده شده در جمعیت مورد مطالعه متغیر باشد. سایر عوامل شامل اختلالات آناتومیک (حدود ۱۵ درصد)، مشکلات آندوکروینی (حدود ۲۰ درصد)، عفونت‌ها (۵ تا ۰/۵ درصد) و عوامل ایمنونولوژیک (۲۰ تا ۵۰ درصد) نیز در سقط جنین موثر هستند (۲). بیش از ۸۰ درصد سقط‌ها در ۱۲ هفته اول بارداری رخ می‌دهند و اختلالات کروموزومی حداقل مسئول ۵۰ درصد آنها هستند. بعد از سه ماهه اول، میزان سقط و میزان بروز اختلالات کروموزومی کاسته می‌شود (۳).

در تعدادی از مطالعات که در آنها تعداد زیادی از محصولات سقط کشت داده و کاریوتیپ آنها بررسی گردیده است مشاهده شده که حدود ۵۰ درصد تمام سقط‌های سه ماهه اول، ۳۰ درصد سقط‌های سه ماهه دوم و ۳ درصد محصولات مرده‌زایی از نظر کروموزومی غیرطبیعی هستند. اما در این مطالعات میزان شیوع اختلالات

کروموزومی در محصولات سقط به احتمال قوی کمتر از حد واقعی برآورد شده است، چون داده‌ها در اثر آلودگی تشخیص داده نشده نمونه‌ها دچار تحریف می‌گردند (۴). بیش از ۹۵ درصد اختلالات کروموزومی که در محصولات سقط دیده می‌شوند از نوع اختلالات تعدادی (آنوپلوئیدی و پلی‌پلوئیدی) هستند؛ اختلالات ساختمانی (جابجائی‌ها و وارونگی‌ها) و موزائیسیم نیز ۵ درصد مابقی را تشکیل می‌دهند. از این میان تریزومی‌های اتوزومی شایع‌ترین اختلالات هستند (معمولاً کروموزوم‌های ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۲۱، ۲۲) و در کنار آنها مونوزومی X (45X) و پلی‌پلوئیدی‌ها قرار دارند (۵).

حدود ۶۰-۵۰ درصد جنین‌های اولیه که به صورت خود به خودی سقط می‌شوند تقریباً در ۹۵ درصد موارد ناشی از خطاهای گامتوزنی مادری و در ۵ درصد آنها ناشی از خطاهای پدری است. تریزومی اتوزومی شایع‌ترین ناهنجاری کروموزومی است که به همراه سقط‌های سه ماهه اول شناسائی شده است. هر چند اکثر تریزومی‌ها در نتیجه عدم تفکیک ایزوله (Nondisjunction) (isolated) ایجاد می‌شوند، بازآرائی مجدد ساختمان کروموزومی از نوع متعادل در ۴-۲ درصد از زوج‌هایی که سابقه سقط‌های مکرر وجود دارد نیز مشاهده می‌شود. تریزومی در مورد تمام کروموزوم‌های اتوزومی به جز کروموزوم شماره ۱۳، ۱۴، ۱۶، ۱۸، ۲۱ و ۲۲ شایع‌تر از بقیه است. مونوزومی X (45 X) از نظر شیوع دومین اختلال کروموزومی است که معمولاً سبب سقط و با شیوع کمتر تولد نوزاد زنده مونث (سندرم ترنر) می‌شود (۶).

تریپلوئیدی اغلب به همراه دژنراسانس هیدروپیک جفتی (مولی) دیده می‌شود. مول‌های هیداتیفورم ناقص ممکن است فقط از نظر کروموزوم شماره ۱۶ تریپلوئید یا تریزومیک باشند. جنین‌های تتراپلوئید به ندرت زنده به دنیا می‌آیند و اکثر آنها در مراحل اولیه بارداری سقط می‌گردند. چنان که در کاریوتیپ محصولات سقط یک جابجائی کروموزومی غیر متعادل دیده شود به وضوح مشخص

رضایت‌نامه‌ای از سوی والدین جنین‌های سقط شده اخذ و در پرونده هر کدام بایگانی گردید.

حدالمقدور سعی شد نمونه‌های ذکر شده در شرایط کاملاً استریل و در داخل سرم فیزیولوژیک به آزمایشگاه منتقل گردند. برخی از نمونه‌ها از بیمارستان الزهراهای شهر تبریز و تعدادی نیز از طریق پزشکان شهرستان‌های اطراف به آزمایشگاه ارسال شدند. نمونه‌گیری از تمامی محصولات سقط و جنین‌های سقط شده توسط پزشک متخصص زنان و مامائی انجام گرفت. برای این منظور قسمت‌هایی از آمیون، مایع آمنیوتیک، جفت یا بافت جنینی در اطاق عمل و تحت شرایط استریل بدون محیط کشت یا سرم فیزیولوژی استریل که در اختیار آنان قرار داده شده بود منتقل و در اولین فرصت به آزمایشگاه فرستاده شد. در برخی از مواقع نمونه کامل جنین در سرم فیزیولوژیک به آزمایشگاه انتقال یافت.

معمولاً نمونه مایع آمنیوتیک طی هفته چهاردهم بارداری اخذ و به طور کاملاً استریل به آزمایشگاه ارسال می‌گردید. در صورت نگهداری در یخچال نمونه تا ۲۴ و گاه تا ۴۸ ساعت قابل رشد می‌باشد. مقدار نمونه مایع آمنیوتیک باید حداقل ۵ میلی لیتر باشد.

ابتدا نمونه در دور ۱۵۰۰ در دقیقه (۱۵۰۰rpm) به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردیده و محلول رویی تخلیه شد. رسوب حاصل که محتوی سلول‌های مایع آمنیوتیک بود توسط پی‌پت پاستور به داخل لوله کشت منتقل شد. سپس سلول‌ها تا حد ممکن در لوله پخش گردیده و مدت ۵ الی ۱۰ دقیقه زمان سپری می‌شد. آنگاه به لوله محتوی نمونه حدود ۵ میلی لیتر محیط کشت Ham-F10 (محصول شرکت Roche) اضافه و مدت سه روز در انکوباتور CO<sub>2</sub> و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از سه روز انکوباسیون، لوله‌ها جهت مشاهده رشد و یا عدم رشد سلول‌ها در زیر میکروسکوپ معکوس (Invert) قرار داده شد (۸).

می‌شود که یکی از والدین احتمالاً حامل متعادل همان جابجائی است. با بررسی کاریوتیپ هر دوی والدین در زوج‌های مبتلا به آسانی می‌توان این شک را تایید یا رد کرد. روش‌های جدیدی جهت تشخیص کروموزوم‌های متافازی میتوز از سال ۱۹۷۰ به وجود آمده‌اند. این روش‌ها شناسائی کروموزوم‌های گونه‌های مختلف را از یکدیگر امکان پذیر کرده است. در این راستا نواربندی G (-) G (Banding) اطلاعات بیشتری را نسبت به سایر نواربندی‌ها نشان می‌دهد (۷).

با توجه به شیوع بسیار بالای اختلالات کروموزومی در جنین‌های سقط شده به خصوص در سه ماهه اول بارداری و نیز توانمندی روش‌های استاندارد سیتوژنتیکی در تشخیص و پیش‌گیری از وقوع این گونه اختلالات در نوزادان دست‌یابی به دو مورد زیر اهداف اصلی مقاله حاضر است:

الف) تعیین انواع اختلالات کروموزومی قابل مشاهده در جنین‌های سقط شده در بیمارستان‌ها و کلینیک‌های شهرستان تبریز و مقایسه آن با گزارشات مربوط به سایر پژوهشگران در خارج از کشور از حیث انواع و فراوانی.

ب) بسترسازی برای اجرای یک استراتژی علمی برای مراقبت از بارداری‌ها جهت تشخیص پیش از تولد اختلالات کروموزومی و پیش‌گیری از تولد نوزادان مبتلا.

## روش کار

این تحقیق مقطعی - تحلیلی به منظور بررسی علل ژنتیکی سقط‌ها در جمعیت باردار منطقه آذربایجان شرقی به صورت آینده‌نگر انجام پذیرفت. تعداد ۶۴ نمونه از جنین‌های سقط شده و محصولات سقط شامل جفت، آمیون و کوریون در مدت دو سال و نیم از طریق پزشکان متخصص زنان و زایمان به مرکز آزمایشگاه جهاد دانشگاهی تبریز ارسال گردید. برای رعایت اصول اخلاقی پزشکی

قطره به لوله افزوده و حجم به ۳ میلی‌لیتر رسید. پس از انکوبه کردن لوله به مدت ۲۰ دقیقه در انکوباتور، بر روی لوله به اندازه حجم محلول داخل آن، محلول فیکساتیو به صورت قطره قطره اضافه شد. این کار سه بار تکرار گردید. بار آخر پس از تخلیه محلول رویی بر روی رسوب حاصل، حدود ۱ میلی‌لیتر محلول فیکساتیو سرد اضافه نموده و کاملاً بهم زده شد و از این محلول گستره لام تهیه گردید (۸).

برای تهیه لام از لام شسته شده و سرد که در یخچال قرار داده شده بود استفاده گردید. لام سرد در روی سطح صافی قرار داده شد و توسط پی پت پاستور از ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر از محلول نمونه قطره قطره بر روی آن ریخته شد. جهت رنگ آمیزی لام‌ها از محلول رنگ گیمسا استفاده شد. از محلول ۱ به ۴ رنگ گیمسا و بافر فسفات به اندازه کافی روی لام ریخته و پس از ۵ دقیقه شستشو صورت پذیرفت (۱۰). با استفاده از عدسی ۱۰۰ میکروسکوپ نوری، از هر نمونه حداقل ۲۰ سلول متافازی مورد بررسی قرار گرفته و با استفاده از دوربین عکاسی متصل به میکروسکوپ از نمونه‌های مذکور عکس گرفته شد.

### نتایج

میانگین سنی مادران حدود ۳۰ سال و کمترین سن ۱۸ و بیشترین سن ۴۲ سال بود. محدوده سنی جنین‌های سقط شده بین هفته ششم و ماه هفتم بارداری بود. از بین زوجین دچار سقط حدود ۶۲ درصد دارای رابطه خویشاوندی درجه اول و دوم بودند.

از تعداد ۶۴ نمونه ارسال شده به آزمایشگاه، ۸ نمونه (۱۲/۵ درصد) به کشت سلولی جواب ندادند. علل متعددی در این امر دخیل بود. از ۸ نمونه مذکور ۶ مورد به علت عدم ارسال نمونه در شرایط استریل (علیرغم قرار دادن در محیط‌های کشت حاوی آنتی‌بیوتیک) به کشت جواب ندادند. دو نمونه دیگر نیز حاصل سقط فراموش شده (Missed abortion) بود که در واقع بافت جنینی نمونه‌های اخیر پس از توقف رشد جنین و سپری شدن مدت طولانی

به مدت ۱۰ الی ۱۵ روز، هر روز محیط کشت لوله‌ها را تعویض نموده و چگونگی رشد سلول‌ها زیر میکروسکوپ معکوس بررسی گردید. زمانی که سلول‌ها به اندازه کافی رشد نمودند برای استخراج sub culture می‌گردیدند. برای انجام تکنیک جی تی جی باندینگ (GTG-Banding) ابتدا محلول رویی محیط کشت خالی گردیده و روی لوله کشت حدود ۲ تا ۳ میلی‌لیتر محلول تریپسین (Gibco cat No: 27250-018) استریل به همراه (Panreac31669) (Ethylene Diamine Tetra EDTA) اضافه می‌شد. پس از مدت ۵ دقیقه در زیر میکروسکوپ لوله کشت حاوی نمونه بررسی و در صورت جدا شدن سلول‌ها پس از ۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. بعد از ۵ دقیقه محلول رویی بوسیله پی پت پاستور کاملاً تخلیه شده و به آن ۳ میلی‌لیتر محیط کشت اضافه شد، به آرامی به هم زده و پس از مخلوط شدن دوباره لوله‌ها به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. محلولی روئی دور ریخته شد و به لوله مورد نظر مجدداً ۱ میلی‌لیتر محیط کشت جدید اضافه گردید. پس از مشاهده لوله‌ها در زیر میکروسکوپ از بابت وجود سلول، بر روی هر کدام ۳-۴ میلی‌لیتر محیط کشت اضافه و در انکوباتور CO<sub>2</sub> و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. کلیه مراحل مذکور در زیر هود استریل انجام یافت. پس از ۴۸ تا ۷۲ ساعت در صورت مشاهده رشد کافی سلول‌ها، بر روی لوله کشت به ازای هر سانتی‌متر مکعب محیط کشت، ۵۰۸ محلول کلسیم (Euro - lone ECM0040C) اضافه و در انکوباتور CO<sub>2</sub> به مدت ۱۶ ساعت انکوبه گردید (۹، ۸).

بر روی لوله کشت حدود ۱ میلی‌لیتر تریپسین و رسن اضافه نموده و ۵ دقیقه انکوبه گردید. پس از این مدت لوله کشت در زیر میکروسکوپ جهت بررسی این که سلول‌ها جدا شده‌اند یا خیر مورد مطالعه قرار گرفت، پس از اطمینان از جدا شدن سلول‌ها، لوله حدود ۱۰ دقیقه در ۱۵۰۰ rpm سانتریفوژ گردید. پس از تخلیه محلول روئی توسط پی‌پت پاستور، از محلول کلرید پتاسیم (KCl) قطره

## بحث

طبق مطالعات و تحقیقات انجام گرفته ناهنجاری های کروموزومی عامل بیش از ۵۰ تا ۸۰ درصد سقطها را به خود اختصاص می دهد. بی شک انجام روش های تشخیصی از جمله کشت کروموزومی از جنین های سقط شده و محصولات سقط در پیش گیری از تولد جنین های با ناهنجاری های کروموزومی احتمالی موثر و لازم است. مقایسه مطالعات صورت گرفته توسط دانشمندان دیگر در مناطق مختلف جهان، ما را بر آن داشت تا بحث را در دو محور اساسی مقایسه فراوانی ناهنجاری ها و مقایسه انواع ناهنجاری ها پایه ریزی و مطالعه نمایم.

همان گونه که قبلاً هم اشاره شد تاکنون مطالعات متعددی در این زمینه در مناطق مختلف جهان صورت پذیرفته است. استیمت اولین فردی بود که در ۱۹۶۲ نشان داد وجود ناهنجاری های سیتوژنتیکی والدین با سقط های مکرر در خانواده ها همراه است (۱۱). در تحقیقی که توسط هوگه و همکاران در سال ۲۰۰۳ و طی چهار سال متمادی بر روی ۵۱۷ نمونه از محصولات سقط جنینی در ایالات متحده انجام گرفت، نشان داده شد که از بین ۲۷۳ مورد محصول سقط، ۱۷ مورد (۶/۲ درصد) در اثر ناهنجاری های ژنتیکی مثل جابجائی ها و یا وارونگی ها و ۲۵۶ مورد (۹۳/۸ درصد) در اثر ناهنجاری های ابتدا به ساکن (De novo) ایجاد شده بود. در مطالعه این گروه ۲۸ مورد (۵/۴ درصد) از نمونه ها به کشت سلولی منجر نگردید. همین طور در نمونه های حاصل از سقط در بارداری های کمتر از ۱۳ هفته یا کمتر میزان ناهنجاری های ژنتیکی ۶۹ درصد بود (۱۲).

در یک تحقیق دیگر که در سال ۲۰۰۰ در کشور عربستان سعودی انجام گرفت الحسین و همکاران در بین ۱۹۳ زوج با سابقه سقط های مکرر نشان دادند که در بین مادرانی که متوسط سن آنها ۳۰/۳۱ سال بود، وجود ناهنجاری های ژنتیکی در ۵/۷ آنها (۱۱ نفر) محرز بوده است. نکته مهم این که در یک جابجائی بین کروموزوم شماره ۵

در رحم، دچار مرگ سلولی شده بودند و به کشت سلولی جواب ندادند. از ۵۶ نمونه ای که به کشت جواب دادند تعداد ۳۴ مورد (۶۱ درصد) دارای ترکیب کروموزومی نرمال بود و ۳۹ درصد مابقی (۲۲ مورد) ترکیب کروموزومی غیرطبیعی را نشان داد (جدول ۱).

جدول ۱. توزیع فراوانی اختلالات کروموزومی در جنین های سقط شده

نوع ناهنجاری	تعداد	درصد
فرد طبیعی (۴۶,XY)	۱۸	۳۳
فرد طبیعی (۴۶,XX)	۱۶	۲۹
تریزومی ۲۱	۷	۱۲/۵
تریزومی ۱۸	۴	۷/۱۴
تریزومی ۱۶	۲	۳/۵۷
تریزومی ۱۳	۴	۷/۱۴
ایزوکروموزومی ۲۱	۱	۱/۸
ایزوکروموزومی X	۱	۱/۸
تریپلوئیدی (۶۹,XXX)	۱	۱/۸
تریپلوئیدی موزائیک (۴۶,XX/۶۹,XXY)	۱	۱/۸
مونوزومی X (ترنر)	۱	۱/۸
جمع	۵۶	۱۰۰

طبق جدول مذکور ۱۷ مورد (۷۷ درصد) از کل ناهنجاری های موجود را تریزومی ها تشکیل می دهند که از این میان نیز بیشترین تعداد مربوط به تریزومی ۲۱ است. با شمارش کروموزوم ها در ۲۰ نمونه از سلول ها، تریزومی ۲۱ با فراوانی ۱۲/۵ درصد، تریزومی ۱۸ با فراوانی ۷/۱۴ درصد، تریزومی ۱۳ با فراوانی ۷/۱۴ درصد، تریزومی ۱۶ با فراوانی ۳/۵۷ درصد، تریپلوئیدی با فراوانی ۳/۶۴ درصد و ایزوکروموزومی ۲۱، ایزوکروموزومی X و نیز مونوزومی X هر کدام با فراوانی ۱/۸ درصد بودند.

تست آماری  $\chi^2$  نشان داد که نه تنها بین ناهنجاری های کروموزومی و سقط های مکرر رابطه مستقیم وجود دارد. در مقایسه نتایج مطالعات کشورمان و اکثر مناطق جهان تفاوتی مشاهده نمی شود.

و ۱۲ در پدر یک خانواده تعداد ۱۰ مورد سقط جنین مشاهده شده است (۹).

لبدوف و همکاران در ۲۰۰۳ در کشور روسیه با مطالعه روی ۶۰ مورد جنین سقط شده در سه ماهه اول بارداری مشخص نمودند که ۳۲ مورد از جنین‌ها (۵۳/۳ درصد) دارای ناهنجاری‌های کروموزومی بوده‌اند. هر دو نوع ناهنجاری‌های تعدادی به صورت تیبیک (شامل تریزومی‌های اتوزومی، آنپلوئیدی کروموزوم جنسی و پلی‌پلوئیدی) و نیز ناهنجاری‌های نسبتاً نادر (شامل مونوزومی کروموزوم ۷، ۱۵، ۲۱ و ۲۲ در حالت موزائیسیم) توسط این گروه نشان داده شد (۱۳).

کار تحقیقی ارزشمندی توسط استفانسون روی ۴۲۰ نمونه جهت تعیین فراوانی و گسترش ناهنجاری‌های کروموزومی در محصول سقط‌های ۲۸۵ زوج صورت پذیرفت. آنالیز سیتوژنتیکی پس از تهیه کاریوتیپ از همه نمونه‌ها نشان داد ۲۲۵ مورد (۵۴ درصد) نمونه‌های مورد نظر یوپلوئید بودند و تعداد ۱۹۵ نمونه (۴۶ درصد) از نظر سیتوژنتیکی غیرطبیعی بودند؛ از بین نمونه‌های دارای حالت غیرطبیعی، ۱۳۱ مورد (۶۶/۵ درصد) حالت تریزومی، ۳۷ مورد (۱۹ درصد) حالت پلی‌پلوئیدی، ۱۸ مورد (۹ درصد) مونوزومی X، ۸ مورد (۴ درصد) حالت جابجایی غیرمتقابل و یک مورد ترکیبی از تریزومی ۲۱ و مونوزومی X را نشان داد. آمارهای این گروه با نتایج تحقیق ما مطابقت زیادی نشان می‌دهد. نکته مهم دیگر در این تحقیق این بود که میزان فراوانی سقط‌های یوپلوئیدی به طور مشخصی در مادران با سن کمتر از ۳۶ سال بالا بود (۱۴).

در تحقیقی که بیک و همکاران در سال ۱۹۹۸ در ایالات متحده انجام دادند میزان آنومالی‌های کروموزومی را در این سقط‌ها ۹۵ درصد از نوع تعدادی و ۵ درصد از نوع ساختمانی گزارش نمودند. همین طور حدود ۶۰ درصد از نوع تعدادی را تریزومی‌ها به خود اختصاص می‌دهند. در این میان میزان تریزومی ۱۶ شایع‌تر از بقیه بود. ۲۰ درصد از

ناهنجاریها مربوط به سندرم ترنر (X 45) و ۱۵ درصد مابقی پلی‌پلوئیدی بوده است (۱۵).

کاراگوس و همکاران در ترکیه با استفاده از تکنیک فیش (FISH) به همراه تکنیک باندینگ روی ۱۳۴ نمونه از محصولات سقط مکرر، توانست ۱۲۵ نمونه را با موفقیت کشت دهد. از این تعداد ۲۶ نمونه (۲۰/۸ درصد) دارای ناهنجاری‌های کروموزومی بودند. ۸۸/۵ درصد از این تعداد (۲۳ مورد) مربوط به ناهنجاری‌های تعدادی و ۱۱/۵ درصد مربوط به ناهنجاری‌های ساختمانی بود. از شایع‌ترین ناهنجاری‌های تعدادی قابل تشخیص در این تحقیق می‌توان به تریزومی‌های ۱۵ و ۲۱، تتراپلوئیدی تریپلوئیدی و مونوزومی X اشاره نمود (۱۶).

دانشمندان ژاپنی به سرپرستی ماساجی ناگاشی در سال ۲۰۰۴ در یک مطالعه روی ۴۲۳ مورد از نمونه‌های سقط شده در ژاپن نشان دادند که از تعداد کل ۴۲۳ مورد، ۳۴۷ مورد آنها به کشت‌های سیتوژنتیکی جواب دادند. از این تعداد ۱۹۶ نمونه (۵۶/۶ درصد) آنومالی‌های کروموزومی را نشان دادند. تریزومی‌های اتوزومی در ۱۲۰ مورد (۲/۶۱ درصد) از نمونه‌های غیرطبیعی (مشاهده گردید. تریزومی‌های دیگر غیر از کروموزوم‌های ۱، ۵، ۶، ۱۱، ۱۲ و ۱۹ در این نمونه‌ها مشاهده شد. شایع‌ترین تریزومی‌های مشاهده شده، تریزومی ۱۶ (۳۰ نمونه)، تریزومی ۲۱ (۱۳ نمونه) و تریزومی ۲۲ (۱۳ نمونه) بود. هشت نمونه تریزومی مضاعف و دو نمونه مونوزومی ۲۱ و بیست و چهار نمونه نیز سندرم ترنر را نشان داد. همین طور تریپلوئیدی در ۲۷ مورد و تتراپلوئیدی در ۵ مورد گزارش گردیده است (۱۷). در مورد فراوانی انواع ناهنجاری‌ها، این مطالعه نیز نتایج بررسی ما را تأیید نماید. مثلاً بیشترین فراوانی را تریزومی ۲۱ به خود اختصاص داده است.

کراپ و همکاران در ۲۰۰۱ جهت بررسی میزان ناهنجاری‌های کروموزومی در جنین‌های سقط شده تحقیقی را روی ۱۶۷ بیمار با سابقه وجود بیش از ۳ مورد سقط مکرر قبل از هفته بیستم انجام دادند. نتایج نشان داد که تعداد ۱۲۵

### نتیجه گیری

نه تنها اختلالات کروموزومی در ایجاد سقط‌های مکرر نقش بسزائی دارند، بلکه از نظر میزان فراوانی انواع اختلالات کروموزومی نیز در مقایسه با سایر مطالعات در کشورهای دیگر مشابهت وجود دارد.

با توجه به این که درصد بالایی از سقط‌های جنین به علت اختلالات کروموزومی اتفاق می‌افتد، کنترل‌های لازم حین بارداری جهت تشخیص ترکیب کروموزومی جنین خصوصاً در مواردی که مادر سابقه سقط در بارداریهای قبلی خود داشته، می‌تواند از تولد نوزاد مبتلا به اختلالات کروموزومی پیش‌گیری نماید.

با توجه به اهمیت موضوع تحقیق حاضر و جهت کسب نتایج بهتر پیشنهاد می‌گردد اولاً مطالعه در سطح وسیع‌تری از نظر زمانی مدنظر قرار گیرد. در بسیاری از مقالات خارج از کشور برای تهیه نمونه‌های مورد آزمایش بیش از ۱۳ سال زمان صرف گردیده است. از این رو می‌توان ضمن ثبت دقیق اطلاعات موجود در مراکز مشاوره ژنتیکی و کلینیک‌های مربوط، به این مهم دست یافت. ثانیاً از روش‌های دیگر از جمله کشت به طور همزمان و نیز تکنیک فیش برای مقایسه دقت و تکرار پذیری استفاده شود.

### تشکر و قدردانی

این مطالعه با استفاده از هزینه طرح پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز با کد طرح ۶۸۴۲۷ انجام یافته است. از همه همکاران محترم حوزه پژوهشی کمال تشکر و امتنان را دارد. هم‌چنین از سرکار خانم زهره موسوی که در انجام کارهای کشت کروموزوم‌ها در این مطالعه ما را یاری نمودند و نیز همکاران محترم متخصص زنان و زایمان بیمارستان الزهراهای تبریز تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

### منابع

1. Aldrich CL, Stephenson MD, Karrison T, Odem RR, Branch DW, Scott JR, et al. HLA-G genotypes and pregnancy outcome in couples

نمونه به کشت و کاریوتیپ جواب دادند. از این تعداد ۲۹ درصد (۳۶ مورد) دارای ناهنجاری‌های کروموزومی بودند (۹۴ درصد آنوپلوئیدی و ۶ درصد مابقی ساختاری). ناهنجاری‌های شایع شامل تریزومی ۱۶، ۱۸، ۲۱ تریپلوئیدی و مونوزومی X گزارش گردید (۱۸). در این مقاله با توجه به سن پائین بارداری در زمان سقط انتظار می‌رود درصد بالایی از ناهنجاری‌های کروموزومی در نمونه‌ها یافت شود که نویسنده مقاله آن را به اثرات درمانی قبل از سقط مرتبط دانسته است (۱۹). در نتایج حاصل از این تحقیق و نتایج مطالعه ما تفاوتی مشاهده نمی‌شود.

در تحقیق دیگری به سرپرستی کراپ از تعداد ۱۵۸ نمونه سقط شده تعداد ۴۲ نمونه (۲۶ درصد) به کشت جواب نداد و در بقیه ۱۱۶ مورد (۷۳ درصد) ۳۸ مورد ناهنجاری کروموزومی از خود نشان داد و ۷۸ نمونه از نظر کروموزومی نرمال بود. میزان آنومالی‌های آنوپلوئیدی ۸۴ درصد و ساختمانی ۱۶ درصد گزارش گردیده است. این گروه از دانشمندان معتقدند مکانیسم‌های متعددی علاوه بر عامل ژنتیک در ایجاد سقط‌های مکرر دخیل است (۲۰).

فررو و همکاران در کشور اسپانیا بر روی محصولات ناشی از سقط در ۶۹ فرد باردار طی هفته‌های چهارم تا دهم مشخص کرد که ۶۷/۳ درصد (۳۷ مورد) دارای آنومالی‌های کروموزومی هستند که شایع‌ترین آنها مربوط به اختلالات از نوع تریزومی هاست (۲۱).

در سال ۲۰۰۴ لات‌های و همکاران در امریکا روی ۹۲ مورد سقط خود به خودی مطالعه کردند، بررسی‌های سیتوژنتیکی نشان داد که ۵۹ درصد محصولات دفع شده بارداری دارای ناهنجاری‌های کروموزومی هستند (۲۲). همان طوری که می‌دانیم فراوانی ناهنجاری‌های کروموزومی با فاکتورهای سن مادر و سن بارداری در زمان سقط ارتباط مستقیمی دارد. در خصوص بررسی فراوانی انواع ناهنجاری‌ها مشاهده می‌شود که تفاوت معنی‌داری با نتایج بررسی ما وجود نداشته و اکثر موارد از ناهنجاری‌ها را تریزومی‌ها تشکیل می‌دهد.

- with unexplained recurrent miscarriage. *Mol Hum Genet* 2001; 7: 1167-72.
2. Canningham FG, Leveno KJ, Bloom SL, Hanth JC, Gilstrop III L, Wenstrom KD. *Williams Obstetrics 22<sup>nd</sup>ed.* New york: Mc Grow-Hill; 2001. p. 825-7.
  3. Alberman E, Beard RW, Sharp F. *Early pregnancy loss: mechanisms and treatment.* New York: Springer-Verlag; 1988. p. 9 -17.
  4. Baek KH. Aberrant gene expression associated with recurrent pregnancy loss. *Mol Hum Reprod* 2004; 10: 291-7.
  5. Baines MG, Gendron RL. Natural and experimental animal models of reproductive failure. In: Chaouat G: *Immunology of Pregnancy.* Boca Raton: CRC Press; 1993. p. 173- 203.
  6. Bhasin MK, Foerster W, Fuhrmann W. A cytogenetic study of recurrent abortion. *Human Genetic* 1973; 18: 139-48.
  7. Goddijn D, Leschot NJ. Genetic aspects of miscarriage. *Bailliere's Clinical Obstetrics and Gynaecology* 2000; 14(5). 855-65.
  8. Wegner RD. *Diagnostic Cytogenetics.* Berlin: Springer Lab Manuals; 2003. p 130-43.
  9. Al Hussain M, Al-Nuaim L, Abu Talib Z, Zaki OK. Cytogenetic study in cases with recurrent abortion in Saudi Arabia *Ann Saudi Med* 2000; 20(3-4):233-6.
  10. Beer AE, Qqebbman JF, Ayes JWT, Haines RF. Major histocompatibility complex antigens, maternal and paternal immune responses and chronic habitual miscarriage. *Am J Obstet Gynecol* 1981; 141: 987-99.
  11. Braekeleer MD, Dao TN. Cytogenetic studies in couples experiencing repeated pregnancy losses. *Hum Reprod* 1990; 5:519-28.
  12. Hogge WA, Byrnes AL, Lanasa MC, Surti U. The clinical use of karyotyping spontaneous abortions. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189(2):397-400.
  13. Lebedev IN, Ostroverkhova NV, Nikitina TV, Sukhanova NN, Nazarenko SA. Molecular cytogenetic characteristics of chromosome imbalance in cells of spontaneous human abortion fetuses with low proliferative activity in vitro. *Genetika* 2003; 39(8): 1111-22.
  14. Stephenson MD, Awartani KA, Robinson WP. Cytogenetic analysis of miscarriage from couples with recurrent miscarriage: a case-control study. *Human Reprod* 2002; 17(2): 446-51.
  15. Bick RL, Madden J, Heller KB, Toofanian A. Impact and implications of chromosomal abnormalities relationship to spontaneous Abortion. *Medscape Women's Health* 1998; 3(3): 2.
  16. Karaoguz MY, Nas T, Konaç E, Ince D, Pala E, Menevse S. Is cytogenetic diagnosis of 46, XX karyotype spontaneous abortion specimens erroneous? Fluorescence in situ hybridization as a confirmatory technique. *J Obstet Gynaecol Res* 2005; 31(6): 508-13.
  17. Nagaishi M, Yamamoto T, Iinuma K, Shimomura K, Berend SA, Knops J. Chromosome abnormalities identified in 347 spontaneous abortions collected in Japan. *J Obstet Gynaecol Res* 2004; 30(3):237-41.
  18. Carp H, Toder V, Aviram A, Daniely M, Mashiach S, Barkai G. Karyotype of the abortus in recurrent miscarriage. *Fertil Steril* 2001; 75(4): 678-82.
  19. Khabiri Oskui N, Mohaddess SM, [Numerical and structural abnormalities of chromosomes in aborted fetuses. Thesis MD. Medical Faculty of Tabriz Medical University, 2003.
  20. Carp H, Toder V, Orgad, S, Aviram A, Danieli M, Mashiach S, et al. Karyotype of the abortus in recurrent miscarriage. *Fertil Steril* 2006; 85(2):446-50.
  21. Ferro J, Martinez MC, Lara C, Pellicer A, Remohi J, Serra V. Improved accuracy of hysteroembryoscopic biopsies for karyotyping early missed abortions. *Fertil Steril* 2003; 80(5): 1260-4.
  22. Lathi RB, Milki AA. Rate of aneuploidy in miscarriages following in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 2004; 81(5): 1270-2.



## **Numerical and structural chromosome aberrations in aborted fetuses with using fetal cell culture and staining with GTG Banding method**

Tabatabaei SM<sup>1\*</sup>, Baghi-Nia MR<sup>2</sup>, Birami M<sup>3</sup>, Malekirad AA<sup>4</sup>

1- Lecturer, MSc of Genetic, Department of Basic Science, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

2- Assistant Professor, Urologist, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

3- Assistant Professor, Psychologist, Department of Psychology, Tabriz University, Tabriz, Iran

4- Lecturer, MSc of Physiology, Department of Biology, Shazand Center of Payame Noor University, Shazand, Iran

Received 31 May, 2009 Accepted 25 Jul, 2009

---

### **Abstract**

**Background:** Approximately 15-20% of pregnancies terminate to abortion. More than 50% of spontaneous abortions in 8-15 weeks pregnant mothers are related to genetically abnormalities. So, approximately 95% of them are related to numerical and 5% structural chromosome aberrations. Until now, neither of known human chromosomal abnormalities are treatable, and only way against these diseases limit to prenatal diagnosis and abortion of affected fetuses. The purpose of this study was determined the chromosome aberrations with cytogenetically methods.

**Materials and Methods:** In this cross-sectional analytic study, 56 aborted fetuses were studied to detection of abnormalities frequency. Amnion-chorine culture, placenta, fetal tissue and aborted products from metaphase cells for gathering metaphase cells were used.

**Results:** After cell culture, chromosome typing and GTG-banding Technique, trisomy 21 with highest frequency (12.5%) and isochromosomy 21, X and monosomy X with lowest frequency (1.8% for each them) was resulted.

**Conclusion:** Not only chromosomal aberrations have important role in recurrent miscarriages, but also frequency rates of chromosomal aberrations in our country are similarity with other countries. Also cytogenetically diagnostic methods such as GTG-banding are a powerful and reliable technique for investigation of parents with recurrent abortion.

**Keywords:** Recurrent abortion, Chromosome aberrations, GTG Banding

\*Corresponding author;  
Email: smt1351@yahoo.com  
Address: Medicine school, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.