پایان نامه

جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

در رشته بیوتکنولوژی(زیست فناوری) میکروبی

عنوان:

تشخیص تعداد کپی کروموزوم ۲۱ جنین با استفاده از تفاوت متیلاسیون در DNA آزاد جنینی جدا شده از خون مادر

استاد راهنما:

دکترسید احمد آل یاسین

دانشجو :

مرجان ملک محمدی

تیر ماه ۱۳۹۱

دانشگاه شاهد

صورت جلسه دفاع از پایان نامه تحصیلی

با تاییدات الهی و استعانت از حضرت ولیعصر "عج"،

جلسه دفاع از پایان نامه خانم **مرجان ملک محمدی** به شماره دانشجویی ۸۸۷۵۸۶۵۰۱ در رشته **بیوتکنولوژی میکروبی** در مقطع **کارشناسی ارشد**

تحت عنوان:

تشخیص تعداد کپی کروموزوم ۲۱ جنین با استفاده از تفاوت متیلاسیون در DNA آزاد جنینی جداشده از خون مادر

به ارزش **۸** واحد در تاریخ ۱۳۹۱/۴/۲۷ساعت ۱۲ تشکیل گردید. هیات داوران پس از استماع دفاعیات و پرسش های لازم، نمره و امتیاز ایشان را به شرح زیر اعلام می دارند:

نمره پایان نامه : به عدد ۱۸,۴۴ به حرف هجده و چهار صدم **امتیاز** بسیار خوب

امتیاز: عالی: ۱۹ تا ۲۰ بسیار خوب: ۱۸ تا ۱۸/۹۹: خوب: ۱۶ تا ۱۷/۹۹ قابل قبول: ۱۴ تا ۱۵/۹۹ غیر قابل قبول: نمره کمتر از ۱۴

عنوان	نام ونام خانوادگی	مرتبه / دانشگاه محل خدمت	امضا
استاد راهنما	دکتر سید احمد آل یاسین	استادیار	
داور اول	دکتر علی هاتف سلمانیان	دانشیار	
داور دوم	دکتر مهرداد نوروزی نیا	استادیار	
نماینده کمیته تحصیلات تکمیلی گروه	دکتر منیژه کرمی	دانشیار	

اظهار نامه دانشجو

اینجانب مرجان ملک محمدی دانشجوی کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی گرایش میکروبی دانشکده علوم پایه دانشگاه شاهد گواهی می دهم که پایان نامه /رساله تدوین شده حاضر با عنوان "تشخیص تعداد کپی کروموزوم ۲۱ جنین با استفاده از تفاوت خیلاسیون DNA آزاد جنینی جدا شده از خون مادر" به راهنمایی اساتید محترم جناب آقای دکتر سید احمد آل یاسین ، توسط شخص اینجانب انجام و صحت و اصالت مطالب تدوین شده در آن، مورد تایید است وبینان به هر زمان، دانشگاه کتبی اطلاع کند که گزارش پایان نامه/رساله حاضر صحت و اصالت لازم را نداشته، دانشگاه حق دارد، مدرک تحصیلی اینجانب را مسترد و ابطال نماید هم چنین اعلام می دارم در صورت بهره گیری از منابع مختلف شامل گزارش های تحقیقاتی، رساله، پایان نامه، کتاب، مقالات تخصصی وغیره، به منبع مورد استفاده ویدید آورنده آن به طور دقیق ارجاع داده شده و نیز مطالب مندرج در پایان نامه/ رساله حاضر تاکنون برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی توسط اینجانب ویا سایر افراد به هیچ کجا ارایه نشده است. در تدوین متن/رساله حاضر، چهار چوب(فرمت) مصوب تدوین گزارش های پژوهشی تحصیلات تکمیلی دانشگاه شاهد به طور کامل مراعات شده و نهایتاً این که کلیه حقوق مادی ناشی از گزارش پایان نامه/ رساله حاضر، متعلق به دانشگاه شاهد می باشد.

نام و نام خانوادگی دانشجو مرجان ملک محمدی

امضاء دانشجو

تاریخ ۹۱/۹/۸

تقدیم به پدرم و نیز تمامی مردان و زنانی که از آغاز تاریخ ایران، از خاک و شرافت ایران و ایرانی با قطره قطره خونشان دفاع کردند،

به پاس تعبیر عظیم و انسانی شان از کلمه ایثار و از خودگذشتگی

تقدیم به عمو و مادرم به پاس عاطفه سرشار و گرمای امیدبخش وجودشان که در این سردترین روزگاران بهترین پشتیبان است

و با صبر و پشتیبانی همیشگی خود در تمامی دوران زندگی ام امید موفقیت را در من زنده نگاه داشتند،

تقدیم به همسر عزیزم به پاس قدردانی از عشق، معرفت و همراهی اش،

و تقدیم به آنان که در راه کسب علم و دانش راهنمایم بودند.

سپاس گزاری

سپاس خدای را که سخنوران، در ستودن او بمانند و شمارندگان، شمردن نعمت های او ندانند و کوشندگان، حق او را گزاردن نتوانند.

از استاد با کمالات و شایسته؛ جناب آقای **دکتر آل یاسین** که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی، از هیچ کمکی در این عرصه بر من دریغ ننمودند و زحمت راهنمایی این پایان نامه را بر عهده گرفتند، کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از خانواده ام و خانواده همسرم بخاطر حمایت ها و همراهی های دلسوزانه شان قدردانم.

از مسؤلان محترم دانشگاه شاهد و پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی علی الخصوص جناب آقای دکتر ثقفی، جناب آقای دکتر اکبری و جناب آقای دکتر امیدی بخاطر حمایت ها و پشتیبانی شان متشکرم.

خلاصه

به دنبال کشف و جداسازی DNA جنینی از خون مادر اخیراً مشخص شده است که امکان تشخیص تفاوت های اپی ژنتیکی بین DNA آزاد جنینی و مادری وجود دارد. هدف این مطالعه تشخیص تعداد نسخه کروموزوم ۲۱ جنین با استفاده از تفاوت متیلاسیون DNA جنین جدا شده از خون مادر بود که منجر به تشخیص پیش از تولد غیرتهاجمی تریزومی ۲۱ می شود. جهت تشخیص تعداد نسخه کروموزوم ۲۱ جنین از مارکرهای اپی ژنتیکی HLCS و RASSF1A که به ترتیب روی کروموزوم ۲۱ و ۳ قرار دارند و هر دو در DNA جنینی هایپرمتیله و در DNA مادری هایپومتیله هستند و نیز مارکر ZFY مربوط به کروموزوم Y می باشد، استفاده شد. نسبت مارکر HLCS به RASSF1A ، در افراد سالم ۱ به ۱ و در بیماران داون ۲ به ۱ می باشد. نسبت مارکر ZFY در جنین های پسر به مارکرهای HLCS وRASSF1A در افراد سالم ۰/۵ و در بیماران سندرم داون به ترتیب ۰/۳۳ و ۰/۵ می باشد. در این طرح از ۳۰ زن باردار با سن بارداری بالاتر از ۸ هفته و ۳ بیمار سندرم داون نمونه خون گرفته و پس ازاستخراج DNA پلاسمایی با استفاده از آنزیم حساس به متیلاسیون (*Bst*UI)که DNA مادری را هضم می نماید، DNA جنینی جدا گردید . سپس مارکرهای فوق با استفاده از DNA جنینی با Real-TaqMan Time PCR بررسی شدند. میانگین نسبت HLCS/RASSF1A ، ZFY/HLCS و ZFY/RASSF1A در نمونه های جنینی به ترتیب ۰/۹۹۶، ۰/۳۹۸ و ۰/۳۸۷ و در نمونه های سندرم داون به ترتیب ۱/۳۷ ، ۰/۳۹ و ۰/۵۹ بدست آمد. با استفاده از روش نسبت HLCS/RASSF1A در نمونه های سالم ۱ به ۱ و در نمونه های سندرم داون ۲ به ۱ بدست آمد، نشان دهنده‌ی این است که از این روش می توان در تشخیص غیرتهاجمی سندرم داون از سن ۸ هفتگی به بعد استفاده نمود.

کلمات کلیدی: DNA آزاد جنینی، ماکر اپی‌ژنتیکی، تشخیص غیرتهاجمی پیش از تولد، آنیوپلوئیدی جنینی، سندرم داون، تفاوت متیلاسیون، پلاسمای مادر

فهرست مطالب و مندرجات

عنوان	صفحه
فصل اول (مقدمه و مروری بر منابع)	۱
۱-۱ میوز و کروموزوم‌ها	۲
۱-۱-۱ ناهنجاری‌های عددی کروموزومی	۲
۱-۱-۱-۱ تریزومی	۴
۱-۱-۱-۱-۱ سندرم داون	۵
۱-۱-۲ عوامل افزایش دهنده آنیوپلوئیدی جنینی	۷
۱-۱-۳ خطاهای میوزی در آنیوپلوئیدی جنینی	۸
۱-۱-۳-۱ مروری بر میوز	۸
۱-۱-۴ خاستگاه ناگسستگی یا عدم تفکیک	۱۰
۱-۱-۴-۱ عدم تفکیک حین میوز اول مادری	۱۱
۱-۱-۴-۱-۱ جدا شدن زود هنگام در میوز اول	۱۲
۱-۱-۴-۲ عدم تفکیک حین میوز دوم مادری	۱۳
۱-۱-۴-۳ عدم تفکیک ویژه پدری	۱۴
۱-۱-۴-۴ علت عدم تفکیک	۱۴
۱-۱-۴-۴-۱ اثر سن مادر	۱۵
۱-۲ روش های رایج تشخیص پیش از تولد	۱۶
۱-۳ سلول‌های جنینی	۱۹
۱-۳-۱ ارتباط تکامل با جفت	۲۰
۱-۳-۲ سلول‌های جنینی در بدن و خون مادر	۲۲
۱-۴ اسیدهای نوکلئیک آزاد جنینی در خون مادر	۲۲
۱-۴-۱ RNA آزاد جنینی درگردش خون مادر	۲۲
۱-۴-۱-۱ مارکر های RNA آزاد جنینی بر روی کروموزوم ۲۱	۲۷
۱-۵ حضور DNA آزاد جنینی در گردش خون مادر	۲۸
۱-۵-۱ منشأ DNA آزاد جنینی در گردش خون مادری	۲۹

۱-۵-۲ توزیع اندازه cffDNA در گردش خون مادری ۳۲
۱-۵-۳ حضور DNA آزاد جنینی در خون مادر یک فرایند پویا ۳۳
۱-۵-۴ حذف cffDNA از گردش خون مادری ۳۴
۱-۶ کشف مارکرهای مشهور اپی‌ژنتیکی مخصوص جنین برای استفاده در تشخیص غیرتهاجمی پیش از تولد ۳۵
۱-۷ اپی ژنتیک ۳۸
۱-۷-۱ متیلاسیون DNA توسط DNA متیل ترانسفرازها ۳۹
۱-۷-۲ نقش متیلاسیون DNA در خاموش سازی رونویسی ۴۰
۱-۷-۳ نقش متیلاسیون DNA در تکامل جنین و نقش گذاری گامت ها ۴۳
۱-۷-۴ مطالعه اپی ژنتیکی متیلاسیون DNA ۴۴
۱-۷-۴-۱ تعیین متیلاسیون DNA با استفاده از آنالیز آنزیم های محدودالاثر حساس به متیلاسیون (MSRE) ۴۵
۱-۸ معرفی مارکرهای استفاده شده در این طرح ۴۶
۱-۸-۱ RASSF1A ۴۶
۱-۸-۲ HLCS ۴۶
۱-۸-۳ ZFY ۴۷

فصل دوم (مواد و روش ها)

۲-۱ مواد و وسایل ۵۰
۲-۲ روش‌ها ۵۳
۲-۲-۱ جمع‌آوری نمونه ۵۳
۲-۲-۲ جداسازی پلاسما ۵۵
۲-۲-۳ تخلیص DNA ژنومی از سلول های خونی مادری و گروه کنترل ۵۷
۲-۲-۴ جداسازی DNA آزاد پلاسمایی ۵۹
۲-۲-۵ حذف DNA آزاد مادری با استفاده از آنالیز MSRE ۶۰

۲-۲-۶ Taqman Real-Time PCR ۶۳
۲-۲-۷ آنالیز آماری ۷۰

فصل سوم(نتایج)

۳-۱ جمع آوری نمونه ۷۴
۳-۲ استخراج DNA پلاسمایی ۷۴
۳-۳ حذف DNA آزاد مادری با استفاده از آنالیز MSRE ۷۶
۳-۴ آنالیز Real-Time PCR به روش TaqMan مارکر HLCS ۷۸
۳-۵ آنالیز Real-Time PCR به روش TaqMan مارکر RASSF1A ۸۰
۳-۶ آنالیز Real-Time PCR به روش TaqMan مارکر ZFY ۸۱
۳-۷ نمودارهای استاندارد مارکرهای اپی‌ژنتیکی HLCS و RASSF1A و نیز مارکر ژنتیکی ZFY ۸۳
۳-۸ نسبت مارکرها ۸۵
۳-۸-۱ نسبت مارکر اپی ژنتیکی HLCS به مارکر اپی ژنتیکی RASSF1A در نمونه های حاصل از هضم آنزیمی و گروه کنترل ۸۵
۳-۸-۲ نسبت مارکر ژنتیکی ZFY به مارکر اپی ژنتیکی HLCS در نمونه های حاصل از هضم آنزیمی و گروه کنترل ۸۹
۳-۸-۳ نسبت مارکر ژنتیکی ZFY به مارکر اپی ژنتیکی RASSF1A در نمونه های حاصل از هضم آنزیمی و گروه کنترل ۹۱
۳-۹ آنالیز آماری نسبت های HLCS/RASSF1A ، ZFY/HLCS و ZFY/RASSF1A در نمونه های جنینی و کنترل توسط برنامه SPSS ۹۳

فصل چهارم (بحث)

۴-۱ حضور DNA آزاد جنینی در پلاسمای مادر ۱۰۱
۴-۲ حذف DNA مادری غیرمتیله جهت جداسازی DNA جنینی متیله ۱۰۱
۴-۳ استفاده از مارکرهای HLCS و RASSF1A در تشخیص تعداد نسخه کرموزوم ۲۱ جنین ۱۰۲
۴-۴ قابلیت استفاده از DNA آزاد جنینی در حالت موزائیسم‌های کروموزومی جفت یا جنین در تشخیص ۱۰۳

قبل از تولد
۴-۵ مزایای متیلاسیون در پایداری مارکرهای متیله در پلاسما ۱۰۵

فصل پنجم (نتیجه‌گیری و پیشنهادات)

۵-۱ نتیجه گیری ۱۰۷
۵-۲ پیشنهادات ۱۰۹
منابع ۱۱۱
پیوست ۱۲۱

فهرست جدول ها

عنوان	صفحه
جدول ۱-۱: بروز ناهنجاری‌های کروموزومی در سقط‌های خودبه‌خودی	۴
جدول۱-۲: بروز ناهنجاری‌های کروموزومی در تازه متولدین	۴
جدول۱-۳: سقط خود به خودی در سندروم های آنیوپلوئیدی شناخته شده ی رایج	۸
جدول ۱-۴: خاستگاه والدینی خطای میوزی منجرشده به آنیوپلوییدی	۱۰
جدول ۱-۵: تعدادی از روش های موجود برای تشخیص پیش از تولد اختلالات ارثی و ناهنجاری های ساختاری	۱۸
جدول ۱-۶ : اطلاعات مربوط به ژن HLCS بدست آمده از سنجش COBRA	۴۷
جدول ۲-۱ : نام مواد و وسایل مورد استفاده	۵۰
جدول ۲-۲ : اطلاعات مارکرهای اپی‌ژنتیکی و ژنتیکی استفاده شده در این طرح	۵۲
جدول۲-۳: اطلاعات اولیه نمونه‌های شرکت کرده	۵۴
جدول۲-۴ : محلول‌ها	۵۸
جدول ۲-۵ : توالی انتخاب شده از دو مارکر HLCS و RASSF1A به همراه سایت های برش آنزیم *Bst*UI در آنها.	۶۱
جدول ۲-۶: واکنش هضم آنزیمی	۶۲
جدول ۲-۷: تنظیم تکثیر DNA مارکرهای HLCS ، RASSF1A و ZFY در PCR معمولی	۶۳
جدول ۲-۸: نمونه واکنش PCR استاندارد برای مارکرهای HLCS و RASSF1A	۶۴
جدول ۲-۹ : ۵ غلظت متفاوت از DNA ژنومی جهت استفاده در رسم نمودار استاندارد هر یک از مارکرها	۶۵
جدول ۲-۱۰ : واکنش TaqMan Real-Time PCR مربوط به مارکر HLCS	۶۶
جدول ۲-۱۱ : واکنش TaqMan Real-Time PCR مربوط به مارکر RASSF1A	۶۷
جدول ۲-۱۲ : واکنش TaqMan Real-Time PCR مربوط به مارکر ZFY	۶۸
جدول ۲-۱۳: برنامه TaqMan Real-Time PCR برای سه مارکر HLCS ، RASSF1A و ZFY	۶۹

جدول ۳-۱: غلظت DNA هر نمونه پس از استخراج از پلاسما ۷۵

جدول ۳-۲: داده های حاصل از آنالیز اطلاعات بدست آمده از TaqMan Real-Time PCR برای نسبت مارکر HLCS به RASSF1A برای ۳۰ نمونه جنینی. ۸۶

جدول ۳-۳: داده های حاصل از آنالیز اطلاعات بدست آمده از TaqMan Real-Time PCR برای نسبت مارکر HLCS به RASSF1A برای ۳ نمونه بیمار سندرم داون و ۵ نمونه فرد سالم ۸۸

جدول ۳-۴: داده های حاصل از آنالیز اطلاعات بدست آمده از TaqMan Real-Time PCR برای نسبت مارکر ZFY به HLCS برای ۳۰ نمونه جنینی ۸۹

جدول ۳-۵: داده های حاصل از آنالیز اطلاعات بدست آمده از TaqMan Real-Time PCR برای نسبت مارکر ZFY به HLCS برای ۳ نمونه بیمار سندرم داون و ۵ نمونه فرد سالم ۹۰

جدول ۳-۶: داده های حاصل از آنالیز اطلاعات بدست آمده از TaqMan Real-Time PCR برای نسبت مارکر ZFY به RASSF1A برای ۳۰ نمونه جنینی ۹۱

جدول ۳-۷: داده های حاصل از آنالیز اطلاعات بدست آمده از TaqMan Real-Time PCR برای نسبت مارکر ZFY به RASSF1A برای ۳ نمونه بیمار سندرم داون و ۵ نمونه فرد سالم. ۹۲

فهرست شکل ها

عنوان	صفحه
شکل ۱-۱: سیناپس کروموزومی در طول مراحل مختلف پروفاز اول میوزی.	۹
شکل ۱-۲: نمایش کروموزوم 21q، به همراه جایگاه‌های ناگسستگی های میوزی	۱۳
شکل ۱-۳: تهاجم جفت در سطح مشترک جنین- مادری در حدود هفته دهم بارداری	۲۱
شکل۱-۴: تاثیر زمان استخراج از خون ذخیره شده در EDTA بر روی غلظت RNA درپلاسما	۲۴
شکل ۱-۵: RNA آزاد خارجی (با اندازه گیری میزان گلیسر آلدئید ۳ فسفات دهیدروژناز (GAPDH) در mRNA) به سرعت از پلاسما زدوده می شود و پس از ۵ ثانیه به سطح طبیعی بر می گردد.	۲۵
شکل ۱-۶: میزان mRNA و پروتئین های مشتق شده از جفت در بارداری های طبیعی	۲۶
شکل ۱-۷: توزیع لگاریتمی cffDNA در حاملگی‌های طبیعی و بدون رویان	۳۱
شکل ۱-۸: غلظت‌های cffDNA در طول بارداری که بوسیله‌ی سنجش ژن SRY بدست آمده است	۳۴
شکل ۱-۹: cffDNA در پلاسمای مادری قبل و بعد از زایمان	۳۵
شکل۱-۱۰: غلظت های MASPIN در دوران بارداری و بعد از زایمان	۳۷
شکل ۱-۱۱ : غلظت های RASSF1A در پلاسمای مادری در طول بارداری	۳۸
شکل ۱-۱۲ : شکل شماتیک سیتوزین و ۵ متیل سیتوزین	۴۰
شکل ۱-۱۳: ارتباط بین متیلاسیون DNA ، تغییرات هیستونی و تغییرات کروماتینی(remodeling)	۴۲
شکل ۱-۱۴: آنالیز DNA بوسیله‌ی اندونوکلئازهای محدودالاثر حساس به متیلاسیون	۴۵
شکل ۲-۱ : لایه‌های موجود در خون پس از سانتریفیوژ کردن	۵۶
شکل ۲-۲ : سایت برش آنزیم *Bst*UI	۶۱
شکل ۳-۱ : عکس ژل الکتروفورز PCR استاندارد مارکر HLCS در دو حالت استخراج فنل کلروفرم و با استفاده از کیت	۷۵

شکل ۳-۲ : عکس ژل الکتروفورز PCR استاندارد مارکر HLCS پس از واکنش هضم آنزیمی *Bst*UI ۷۶

شکل ۳-۳ : عکس ژل الکتروفورز PCR استاندارد مارکر RASSF1A پس از واکنش هضم آنزیمی *Bst*UI ۷۷

شکل ۳-۴ : عکس ژل الکتروفورز PCR استاندارد مارکر ZFY پس از واکنش هضم آنزیمی *Bst*UI ۷۸

شکل ۳-۵: عکس ژل الکتروفورز TaqMan Real-Time PCR مارکر HLCS ۷۹

شکل ۳-۶: نمودار بدست آمده از TaqMan Real-Time PCR برای مارکر HLCS ۷۹

شکل ۳-۷: عکس ژل الکتروفورز TaqMan Real-Time PCR مارکر RASSF1A ۸۰

شکل ۳-۸: نمودار بدست آمده از TaqMan Real-Time PCR برای مارکر RASSF1A ۸۱

شکل ۳-۹ : عکس ژل الکتروفورز TaqMan Real-Time PCR مارکر ZFY ۸۲

شکل۳-۱۰: نمودار بدست آمده از TaqMan Real-Time PCR برای مارکر ZFY ۸۲

شکل ۳-۱۱: نمودار استاندارد و کارایی تکثیر DNA مارکر HLCS بدست آمده از TaqMan Real-Time PCR ۸۳

شکل ۳-۱۲: نمودار استاندارد و کارایی تکثیر DNA مارکر RASSF1A بدست آمده از TaqMan Real-Time PCR ۸۴

شکل ۳-۱۳: نمودار استاندارد و کارایی تکثیر DNA مارکر ZFY بدست آمده از TaqMan Real-Time PCR ۸۴

شکل ۳-۱۴: نسبت مارکرهای HLCS، RASSF1A و ZFY در هر نمونه DNA جنینی. ۹۴

شکل ۳-۱۵: پراکندگی نسبت های HLCS/RASSF1A ، ZFY/HLCS و ZFY/RASSF1A در بین نمونه های DNA جنینی ۹۵

شکل ۳-۱۶: نسبت مارکرهای HLCS، RASSF1A و ZFY در هر نمونه DNA سالم. ۹۶

شکل ۳-۱۷: نسبت مارکرهای HLCS، RASSF1A و ZFY در هر نمونه DNA بیماران سندرم داون. ۹۷

شکل ۳-۱۸: پراکندگی نسبت های HLCS/RASSF1A ، ZFY/HLCS و ZFY/RASSF1A در بین نمونه های بیماران سندرم داون و نمونه های افراد سالم. ۹۸

مقدمه

و

مروری بر منابع

۱-۱ میوز و کروموزوم‌ها

۱-۱-۱ ناهنجاری های عددی کروموزومی

ناهنجاری‌های عددی، حذف یا به‌دست آوردن یک یا بیش‌تر کروموزوم است که به آنیوپلوئیدی[۱] معروف است، یا همراه با اضافه شدن یک یا بیش‌تر از مکمل هاپلوییدی کامل است که پلی‌پلوییدی[۲] نام دارد.

از دست دادن یک کروموزوم منفرد به مونوزومی[۳] منجر می شود. به دست آوردن یک یا دو عدد از کروموزوم‌های هومولوگ به ترتیب تریزومی[۴] (سه تایی) و تترازومی[۵] (چهارتایی) نامیده می شود.

توسعه‌ی فنون معتبر برای تجزیه و تحلیل کروموزوم در سال ۱۹۵۶ به سرعت منجر به کشف چندین بیماری (به دلیل ناهنجاری در تعداد کروموزوم) شد. در واقع، در خلال سه سال علل نشانگان داون (47,XX/XY,+21)، نشانگان کلاین‌فلتر (47,XXY) و نشانگان ترنر (45,X) مشخص شد. اندکی بعد،

[1] Aneuploidy
[2] Polyploidy
[3] Monosomy
[4] Terisomy
[5] Tetrasomy

نشانگان های تریزومی‌های دیگر شناسایی شدند و اندک‌اندک در خلال سال‌های بعد بسیاری دیگر از نشانگان‌های بدریختی چندگانه توصیف گردیدند که در آن‌ها ماده‌ی کروموزومی اضافه یا کم شده بود (Turnpenny and Ellard, 2005) .

تا امروز در حدود ۲۰ هزار ناهنجاری کروموزومی در پایگاه‌های اطلاعاتی آزمایشگاهی ثبت شده است. هر چند به شکل انفرادی، بیش‌تر این‌ها کمیاب هستند، اما روی‌هم رفته سهم عمده‌یی در بیماری‌ها و مرگ ومیر انسان دارند. ناهنجاری‌های کروموزومی مسؤول بخش بزرگی از سقط خودبه‌خودی و معلولیت دوران کودکی بوده و نیز در پیدایش نسبت چشمگیری از بدخیمی‌ها که در اثر اختلالات کروموزومی سوماتیک اکتسابی در دوران بچگی و بلوغ بروز می‌یابند، نقش دارند (Turnpenny and Ellard, 2005) .

ناهنجاری‌های کروموزومی در دست کم ۱۰ درصد همه اسپرم‌ها و ۲۵ درصد اووسیت‌های بالغ حضور دارند. بین ۱۵ درصد و ۲۰ درصد کل بارداری‌های تشخیص داده شده در سقط خودبه‌خودی خاتمه می‌یابند وتخم‌ها و جنین‌های بسیار بیش‌تری به‌حدی ناهنجار هستند که بقای آن‌ها بیش از چند روز یا چند هفته پس از لقاح، ممکن نیست. تقریباً ۵۰ درصد همه سقط‌های خودبه‌خودی ناهنجاری کروموزومی داشته(جدول۱-۱) و بروز اختلالات کروموزومی در جنین‌هایی که از نظر ریخت‌شناسی طبیعی هستند، در حدود ۲۰ درصد است. این مشاهدات بیانگر آن است که ناهنجاری‌های کروموزومی مسؤول ازبین‌رفتن نسبت بسیار بالایی از همه بارداری‌های انسان هستند (Turnpenny and Ellard, 2005) .

بروز اختلالات کروموزومی از لقاح به‌سمت جلو به سرعت کاهش می‌یابد، به‌نحوی که در زمان تولد تا سطح ۰/۵ تا ۱ درصد کاهش‌یافته است، هر چند مقدار کل در نوزادان مرده به دنیا آمده بسیار بیش‌تر (۵درصد) است. جدول(۱-۲) بروز ناهنجاری‌های کروموزوم را بر اساس بررسی‌های انجام شده بر روی نوزادان تازه متولد شده نشان می‌دهد.

جدول۱-۲: بروز ناهنجاری‌های کروموزومی در تازه متولدین

ناهنجاری	بروز در ۱۰۰۰۰ تولد
اتوزومی‌ها	
تریزومی ۱۳	۲
تریزومی ۱۸	۳
تریزومی ۲۱	۱۵
کروموزوم‌های جنسی	
متولدین مؤنث	
45,X	۱ تا ۲
47,XXX	۱۰
متولدین مذکر	
47,XXY	۱۰
47,XYY	۱۰
دیگر نوآرایی‌های	۱۰
غیرمتعادل	۳۰
نوآرایی‌های متعادل	۹۰
کل	

جدول ۱-۱: بروز ناهنجاری‌های کروموزومی در سقط‌های خودبه‌خودی

ناهنجاری	بروز(درصد)*
تریزومی ۱۳	۲
تریزومی ۱۶	۱۵
تریزومی ۱۸	۳
تریزومی ۲۱	۵
سایر تریزومی‌ها	۲۵
مونوزومی X	۲۰
تریپلوییدی	۱۵
موارد دیگر	۱۰

*(درصدها مربوط به کل سقط شده‌های ناهنجار کروموزومی هستند)

۱-۱-۱-۱ تریزومی

حضور یک کرموزوم اضافی، تریزومی یا سه تایی نامیده می شود. اکثر موارد نشانگان داون ناشی از حضور یک کروموزوم اضافی شماره ۲۱ است، از این رو نشانگان داون اغلب تریزومی ۲۱ شناخته می شود. تریزومی های اتوزومی دیگر که با بقا سازگارند، نشانگان پاتو[1] (تریزومی ۱۳) و ادواردز[2] (تریزومی ۱۸) هستند. بیش‌تر تریزومی‌های اتوزومی دیگر به حذف در اوایل بارداری منجر می شوند که تریزومی ۱۶ به‌ویژه یک مورد معمول است که در سقط‌های خودبه‌خودی سه ماه‌ی نخست بارداری یافت می شود. حضور یک کروموزوم جنسی اضافی (X یا Y) تنها دارای اثرات فنوتیپی ملایم یا خفیف است.

[1] Patau
[2] Edwards

تریزومی ۲۱ معمولاً به دلیل شکست در جدایی یا تفکیک یکی از جفت‌های کروموزوم‌های هومولوگ در خلال آنافاز میوز اول مادری رخ می دهد. این شکست در جدایی بی‌والانت، عدم تفکیک یا ناگسستگی نامیده می شود. با وفور کمتر، تریزومی نیز می تواند توسط عدم تفکیک در خلال میوز دوم، زمانی که یک جفت از کروماتیدهای خواهری قادر به تفکیک از هم نیستند، رخ دهد. در نتیجه‌ی هر یک از این دو شیوه، گامت دو کروموزوم هومولوگ را دریافت می کند(دیزومی)[1] و چنان چه لقاح بعدی رخ دهد، یک بارداری[2] تریزومی رخ می دهد.

۱-۱-۱-۱-۱ سندرم داون

سندرم داون یا تریزومی ۲۱، شایع‌ترین و شناخته شده‌ترین اختلالات کروموزومی است که به تنهایی شایع‌ترین علت ژنتیک عقب‌ماندگی ذهنی متوسط می‌باشد. حدود ۱ در هر ۸۰۰ کودک متولد شده، مبتلا به سندرم داون است و در بین نوزادان زنده بدنیا آمده یا جنین‌های مادران ۳۵ ساله یا مسن‌تر، این میزان بروز به مراتب بیشتر می‌شود(Robert L.Nussbaum et al., 2005).

این سندرم از نظر بالینی، ابتدا در سال ۱۸۶۶ توسط لنگدون داون[3] توصیف شد، اما علت آن حدوداً یک قرن اسرارآمیز باقی ماند. دو خصوصیت با ارزش توزیع جمعیتی آن، توجه افراد را به خود جلب کرده است؛ افزایش سن مادر و توزیع خاص در داخل خانواده‌ها (همبستگی در دوقلوهای تک تخمکی، اما عدم همبستگی تقریباً کامل در دوقلوهای دوتخمکی و سایر اعضای خانواده). اگرچه در اوایل دهه‌ی ۱۹۳۰ مشخص شد که نوعی ناهنجاری‌های کروموزومی می تواند این مشاهدات را توضیح دهد. اما تا آن زمان هیچ کس باور نداشت که انسان ها ممکن است دچار ناهنجاری‌های کروموزومی باشند. زمانی که تکنیک‌های آنالیز جزئی کروموزومی در دسترس قرار گرفت، سندرم داون یکی از اولین حالاتی بود که

[1] Disomy
[2] Conceptus
[3] Langdon Down

از لحاظ کروموزومی مورد امتحان قرار گرفت. در سال ۱۹۵۹، ثابت شد که بیشتر کودکان با سندرم داون دارای ۴۷ کروموزوم هستند، عضو اضافی یک کروموزوم اکروسنتریک بود که در آن زمان به عنوان کروموزوم ۲۱ تعیین شد (Turnpenny and Ellard, 2005) .

فنوتیپ

سندرم داون معمولاً در بدو تولد یا بعد از آن بوسیله ماهیت بدشکلی آن که در میان بیماران، متغییر است قابل تشخیص است. اما با این حال یک فنوتیپ متمایز بوجود می‌آورد. هیپوتونی[1] ممکن است اولین ناهنجاری قابل توجه در کودک باشد. علاوه بر ماهیت بدشکلی صورت که حتی برای یک مشاهده‌گر فاقد تجربه آشکار است، بیماران دارای قد کوتاه، براکی‌سفالی[2] با یک استخوان پس سری تخت هستند. گردن کوتاه و پوست پشت گردن شل می باشد. پل بینی صاف و گوش‌ها پایین قرار گرفته‌اند و یک ظاهر چین‌دار مشخص دارند. اطراف حاشیه‌ی عنبیه لکه‌های براش‌فیلد[3] دیده می شود. دهان باز است و زبان اغلب بیرون زده و شیار دار است. اصطلاح مونگولیسم اشاره به قالب چهره‌ی این افراد دارد که بوسیله چین‌های اپی‌کانتوس مشخص که به چشم‌ها ظاهر مایل را می دهد، بوجود می آید (این اصطلاح اکنون دیگر مناسب نیست و نباید استفاده شود). دستها کوتاه و پهن و اغلب با یک شیار پهن عرضی کف دست همراهند. خطوط سیمین[4] و انگشت پنجم به سمت داخل خمیده یا کلینوداکتیکی[5] هستند. الگوهای پوستی کف دست بسیار مشخص است و در پاها الگوهای برجستگی پوستی مشخصه این بیماری است. در پاها یک فاصله وسیع بین اولین و دومین انگشت دارند و در سطح کف پا شیاری وجود دارد که به سمت پروگزیمال می آید(Robert L.Nussbaum et al., 2005).

[1] Hypotonia
[2] Brachycephaly
[3] Brushfield spot
[4] Simian crease
[5] Clinodactyly