

ضروریات بالینی پاتولوژی مولکولی

هنری

HENRY'S

Clinical Diagnosis AND Management
BY Laboratory Methods

RICHARD A. McPHERSON

MATTHEW R. PINCUS

مترجم:

دکتر اکرم وطن‌نژاد

(عضو هیئت علمی دانشگاه تهران)



سرشناسه
عنوان و نام پدیدآور
مشخصات نشر
مشخصات ظاهری
شابک
وضعیت فهرست‌نویسی

مک‌فرسون، ریچارد ا. Mcpherson, Richard A.
پاتولوژی مولکولی Molecular pathology / [ویراستاران ریچارد ا. مک‌فرسون، متیو آر. پینکوس]:
مترجم دکتر اکرم وطن‌نژاد.
تهران: انتشارات سنا، ۱۴۰۵.
۳۱۰ ص.: مصور، جدول، نمودار.
۹۷۸-۶۰۰-۴۸۸-۵۹۵-۹
فیپا

یادداشت
عنوان دیگر
موضوع

کتاب حاضر ترجمه بخش‌هایی از کتاب
"Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods, 24th. ed, [2022] است.

Surgical pathology
Molecular pathology
Surgical Pathology - Tests and Exercises
Molecular Pathology - Tests and Exercise

ضروریات بالینی پاتولوژی مولکولی هنری
آسیب‌شناسی جراحی
آسیب‌شناسی مولکولی
آسیب‌شناسی جراحی - آزمون‌ها و تمرین‌ها
آسیب‌شناسی مولکولی - آزمون‌ها و تمرین‌ها

پینکوس، متیو آر.
Pincus, Matthew R.
وطن‌نژاد، اکرم، ۱۳۶۳-، مترجم
هنری، جان برنارد، ۱۹۲۸- م. پاتولوژی مولکولی
RB۴۶
۶۱۶/۱۵
۱۰۵۲۷۵۴۰

شناسه افزوده
شناسه افزوده
شناسه افزوده
شناسه افزوده
رده بندی کنگره
رده بندی دیویی
شماره کتابشناسی ملی



ناشر

نام کتاب

مترجم

شابک

نوبت چاپ

مدیر اجرایی و صفحه‌آرا

طراح جلد

پست الکترونیک

سایت انتشارات

تیراژ

قیمت

انتشارات علمی سنا

ضروریات بالینی پاتولوژی مولکولی هنری

دکتر اکرم وطن‌نژاد

۹۷۸-۶۰۰-۴۸۸-۵۹۵-۹

اول - ۱۴۰۵

افتخار معصومی

صنم آفریگان

elmisana@gmail.com

sanabook.com

۱۰۰ نسخه

برای مشاهده قیمت اسکن کنید.



دفتر مرکزی: تهران، میدان انقلاب.
خیابان جمال‌زاده شمالی.
خیابان فرصت شیرازی. پلاک ۷۲
تلفن: ۰۲۱ - ۶۶۵۷۴۳۴۵

شما می‌توانید کتاب‌های نشر علمی سنا را علاوه بر کتابفروشی‌های سراسر کشور از نمایندگی‌های اختصاصی مؤسسه واقع در کلیه استان‌ها تهیه نمایید.
آدرس نمایندگی‌ها در سایت sanapezeshki.com و یا انتهای کتاب درج شده است.
تلفن دفتر پخش: ۰۲۱ - ۶۶۵۷۴۳۴۵

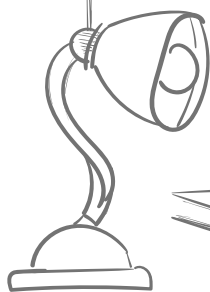


در طی چندین سال تحصیل و تدریس در علوم پزشکی به کرات به دانشجویان و داوطلبینی برخوردیم که علی‌رغم تلاش فراوان برای مطالعه و یادگیری مطالب پرحجم کتب علوم پزشکی، نمی‌توانند سر جلسه امتحان یا کنکور نتیجه مطلوب را بگیرند. با بررسی شیوه مطالعه این افراد به این نتیجه رسیدیم که بسیاری از آن‌ها توانایی دسته‌بندی و تفکیک مطالب و نگاه کل به جزء را در ذهن خود ندارند.

مشکل این است که این افراد از ابتدا به مطالب به‌صورت جزء به جزء نگریسته‌اند، در حالی که قبل از فرود به جزیره ناشناخته هر فصل می‌بایست از بالا مختصات کلی آن را در ذهن ترسیم کرد. دقیقاً مثل نرم‌افزار نقشه گوگل (google map) یک بار نمای کلی نقشه را با دیدن نام مناطق، اتوبان‌ها در نظر می‌گیرید و سپس بر روی فلان خیابان یا کوچه زوم می‌کنید. نگاه کل به جزء و دسته‌بندی شده در مطالعه نیز به همین صورت است. اگر شما مطالب را در قالب نکات مجزا حفظ کنید، هیچ وقت نمی‌توانید ارتباط آن‌ها را با یکدیگر متوجه شوید.

مزیت کتاب پیش‌رو علاوه بر خلاصه بودن، دسته‌بندی مطالب مرتبط باهم است. در حقیقت نویسنده، کتاب رفرنس را پس از مطالعه، خلاصه‌برداری کرده و مطالب سردسته و زیردسته را برای شما به شکلی زیبا در قالب نمودارها و شاخه‌ها رسم کرده است. به‌طوری که وقتی یک صفحه از کتاب را می‌خوانید و می‌فهمید، مطمئن باشید که چندین صفحه از کتاب رفرنس را خوانده و فهمیده‌اید! بنابراین بعد از تهیه این کتاب، تنها کاری که شما انجام می‌دهید، این است که کتاب را باز کنید و بخوانید!! خلاصه‌برداری نکنید، فقط سعی کنید ارتباط مطالب را با هم پیدا کنید و دیگر هیچ ...

در پایان از کلیه اساتید، دانشجویان و سایر خوانندگان محترم خواهشمندیم هرگونه اشکال تایپی و املائی مرتبط با این کتاب را از طریق پست الکترونیک elmisana@gmail.com اطلاع رسانی نمایید تا در ویرایش‌های بعدی این کتاب برطرف گردند. مسلماً این اثر حاصل تلاش زنجیره‌ای از افراد است که برای تولید آن از نگارش گرفته تا تایپ، صفحه‌آرایی، طراحی، لیتوگرافی و چاپ زحمات زیادی کشیده‌اند و از فروش هر نسخه از کتاب، افراد زیادی کسب روزی می‌کنند. لذا از خوانندگان بخاطر اینکه از حقوق این افراد با کپی نکردن این کتاب چه صورت فایل و یا کپی کاغذی حمایت می‌کنند، متشکریم.



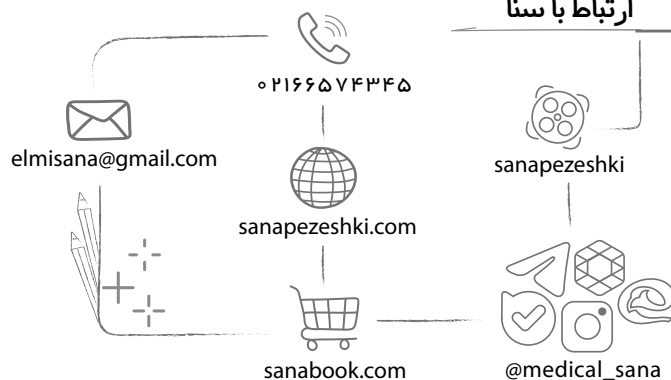


پیشرفت روزافزون دانش پاتولوژی مولکولی و نقش روزافزون آن در تشخیص، پیش‌آگهی و انتخاب درمان‌های هدفمند، ضرورت تسلط بر مفاهیم این حوزه را برای دانشجویان و متخصصان علوم آزمایشگاهی، پاتولوژی و سایر رشته‌های علوم پزشکی بیش از گذشته آشکار کرده است. با این حال، گستردگی مطالب، تنوع مسیرهای مولکولی و اصطلاحات تخصصی، یادگیری این مباحث را برای بسیاری از دانشجویان دشوار می‌کند.

این کتاب با هدف تسهیل یادگیری مفهومی و افزایش آمادگی برای آزمون‌های تخصصی علوم آزمایشگاهی و پاتولوژی، بر پایه متن اصلی کتاب هنری تدوین شده است. در این اثر، ضمن حفظ امانت در انتقال مفاهیم علمی، مطالب با ساختاری آموزشی و منظم بازآرایی شده‌اند. از ویژگی‌های این کتاب می‌توان به ترجمه روان و دقیق متن اصلی، طبقه‌بندی آموزشی و نظام‌مند مطالب، استفاده از نمودارها و دسته‌بندی‌های ساده برای تبیین مفاهیم پیچیده، ارائه خلاصه‌های مروری در پایان هر فصل و پاسخ تشریحی سؤالات سال‌های گذشته آزمون دوره تکمیلی علوم آزمایشگاهی اشاره کرد. این رویکرد، علاوه بر کمک به یادگیری عمیق‌تر، امکان مرور سریع و هدفمند مطالب را نیز فراهم می‌کند.

امید است این اثر بتواند منبعی کاربردی برای دانشجویان، داوطلبان آزمون‌های تخصصی و تمامی علاقه‌مندان به حوزه پاتولوژی مولکولی باشد و گامی مؤثر در تسهیل یادگیری این مباحث ارزشمند بردارد. در پایان، از خداوند متعال برای همه خوانندگان این کتاب آرزوی موفقیت و سربلندی دارم و امیدوارم مطالعه این اثر در مسیر ارتقای دانش و دستیابی به اهداف علمی آنان مفید و اثربخش باشد.

ارتباط با سنا

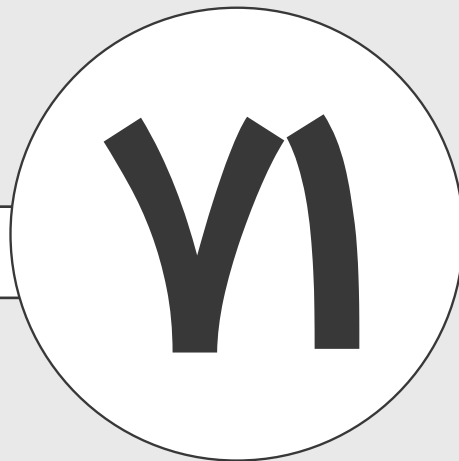


۷	فصل ۶۷: آشنایی با پاتولوژی مولکولی
۹	فصل ۶۸: اصول پایه و روش های تشخیص مولکولی
۳۰	فصل ۶۹: واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) و سایر روش های تکثیر اسید نوکلئیک
۵۲	فصل ۷۰: روش های هیبریداسیون با آرایه
۶۶	فصل ۷۱: کاربرد سیتوژنتیک در پاتولوژی مدرن
۱۰۲	فصل ۷۲: تشخیص مولکولی بیماری های ژنتیکی
۱۳۱	فصل ۷۳: ژنتیک مولکولی در اختلالات اعصاب و روان
۱۴۸	فصل ۷۴: تعیین هویت با استفاده از آنالیز DNA در تشخیص نسبت های خانوادگی (والد-فرزندی)، تحقیقات پزشکی قانونی و شناسایی افراد مفقود
۱۵۸	فصل ۷۵: فارماکوژنومیکس و پزشکی فرد محور
۱۸۹	فصل ۷۶: تشخیص و مدیریت سرطان با استفاده از مارکرهای سرولوژیک و سایر مارکرهای موجود در مایعات بدن
۲۰۷	فصل ۷۷: انکوپروتئین ها و تشخیص زودرس تومورها
۲۳۳	فصل ۷۸: تشخیص مولکولی بدخیمی های خونی
۲۳۹	فصل ۷۹: پاتولوژی مولکولی تومورهای توپر
۲۸۸	فصل ۸۰: فناوری های ژنومی و پروتئومی با توان عملیاتی بالا در دوران پسا ژنومی

خوشحالیم که ما را انتخاب کرده اید.

حالا که به انتهای این فهرست رسیده اید برای بهبود این همراهی، به همکاریتان نیاز داریم. حتی یک ایده کوچک! در لینک روبه رو می توانید ایده هایتان را با ما به اشتراک بگذارید. یک فرم نظرسنجی هم خواهید دید. برای ثبت ایده یا شرکت در نظرسنجی QR را اسکن کنید.





کاربرد سیتوژنتیک در پاتولوژی مدرن

ژنتیک پزشکی

تعریف: ژنتیک پزشکی شامل دو شاخه بالینی (ژنتیک بالینی و مشاوره ژنتیک) و سه شاخه آزمایشگاهی (سیتوژنتیک، مولکولی و بیوشیمیایی) است.

شاخه‌های بالینی ژنتیک پزشکی

الف) ژنتیک بالینی: بررسی و تشخیص بیماری‌های ژنتیکی در بیماران.
ب) مشاوره ژنتیک: راهنمایی خانواده‌ها و بیماران درباره خطرات، انتقال بیماری‌ها و تصمیم‌گیری‌های بالینی.

شاخه‌های آزمایشگاهی ژنتیک

الف) سیتوژنتیک:
1) از منظر سیتوژنتیک، ناهنجاری‌های کروموزومی به دو دسته عددی و ساختاری تقسیم می‌شوند و روش‌های اصلی تشخیص آنها شامل کاریوتایپ، FISH، میکروآرری و توالی‌یابی DNA هستند. سیتوژنتیک همچنان کم‌هزینه‌ترین و ساده‌ترین روش برای تشخیص ناهنجاری‌های عددی و ساختاری کروموزوم‌هاست.
2) ناهنجاری‌ها می‌توانند ارثی یا **de novo** باشند و در هر مرحله زندگی (از دوران جنینی تا بزرگسالی) قابل شناسایی‌اند.
3) روش‌های تشخیص: FISH: ترکیب سیتوژنتیک و ژنتیک مولکولی برای تشخیص ژن‌های خاص.
4) میکروآرری و توالی‌یابی DNA: ابزارهای نوین برای کشف سندرم‌های جدید و بهینه‌سازی تشخیص و درمان.

ب) ژنتیک مولکولی: بررسی ژن‌ها و موتاسیون‌ها در سطح DNA.
پ) ژنتیک بیوشیمیایی: مطالعه مسیرهای متابولیک و نقص‌های آنزیمی.

جدول واژه‌های کلیدی در ژنتیک

اصطلاح	تعریف ساده	مثال / نکته
ژن	• واحد وراثت، • بخشی از DNA کدکننده RNA یا پروتئین	ژن هموگلوبین
کروموزوم	(ساختار آن = DNA + پروتئین)؛ حامل اطلاعات ژنتیکی	انسان دارای 46 کروموزوم
آتوزوم	همه کروموزوم‌ها به جز کروموزوم‌های جنسی (X و Y)	کروموزوم 1 تا 22
کروموزوم‌های همولوگ	یک جفت کروموزوم (یکی از مادر و یکی از پدر)	جفت کروموزوم 5 و ...
لوکوس	محل ژن روی کروموزوم	لوکوس ژن ABO
آلل	شکل‌های مختلف یک ژن در یک لوکوس	گروه‌های خونی A، B و O در سیستم ABO
موتاسیون	تغییر دائمی و توارث پذیر در DNA	جنبه مثبت: مقاومت مالاریا در سلول داسی
کاریوتایپ	ترکیب کروموزومی فرد (n)	انسان 2n کروموزوم = 46 کروموزوم
کاریوگرام	تصویر مرتب‌شده کروموزوم‌ها در یک سلول	عکس کاریوتایپ
دیپلوئید	وجود دو نسخه از هر کروموزوم	سلول‌های بدن انسان
هاپلوئید	وجود یک نسخه از هر کروموزوم	گامت‌ها (n = 23)
هموزیگوت	وجود دو آلل مشابه	AA در ABO
هتروزیگوت	وجود دو آلل متفاوت	AO در ABO
همی‌زیگوت	وجود تنها یک کروموزوم یا بخشی از آن	مردان با یک X
ژنوتیپ	ترکیب آلل‌های فرد	AA, AO, BO, AB, OO
فنوتیپ	برهم‌کنش ژنوتیپ (ترکیب ژنتیکی) با محیط و ویژگی‌ها و ظاهر قابل مشاهده‌ی متفاوت در یک فرد	بروز گروه خونی A یا B

اصطلاح	تعریف ساده	مثال/نکته
آل غالب	با یک نسخه کروموزومی هم بیان می شود	بیان A غالب بر بیان O
آل مغلوب	فقط در حالت هموزیگوت بیان می شود	بیان O فقط در OO
آل های هم غالب	هر دو آل همزمان بیان می شوند	بیان هر دو آنتی ژن در AB
تفکیک مستقل (Independent Assortment)	جدایش تصادفی کروموزوم های مادری و پدری در هنگام تشکیل گامت ها	احتمال توارث 50٪ از هر والد
لینکژ (Linkage)	چند ژن روی یک کروموزوم با هم منتقل می شوند	توارث ژن های نزدیک هم
کراسینگ آور (Crossing over)	تبادل فیزیکی بخش های کروموزومی بین همولوگ ها (نوترکیبی آلی کروموزومی)	افزایش تنوع
نوترکیبی	ایجاد ترکیب های جدید آلی	نتیجه کراسینگ آور
میتوز	تقسیم سلول های سوماتیک	دو سلول مشابه
میوز	تقسیم سلول های جنسی	تولید گامت ها
عدم جدا شدن کروموزومی (Nondysjunction)	عدم جدایش کروموزوم ها ← ایجاد تعداد غیرطبیعی کروموزوم ها	تریزومی 21

سیتوژنتیک (Cytogenetics)

الف سیتوژنتیک علمی است که روش ها و یافته های سیتولوژی (مطالعه سلول) و ژنتیک را ترکیب می کند تا وراثت در سطح سلولی بررسی شود. اساس کار آن، مطالعه دقیق کروموزوم ها است.

ب سیتوژنتیک با استفاده از روش های مختلف از جمله کاریوتایپ (آنالیز برای مشاهده کل کروموزوم ها)، میکروآرری کروموزومی (برای شناسایی تغییرات تعداد کپی در ژنوم) و FISH (برای آشکارسازی نواحی یا بازآرایی های خاص کروموزومی) بررسی می شود.

طول کروموزوم ها در چرخه سلولی تغییر می کند؛ در مرحله متافاز بیشترین تراکم را دارند. **متافاز بهترین زمان برای مشاهده کروموزوم ها است و پایه بیشتر مطالعات سیتوژنتیک محسوب می شود.** یک کروموزوم متافازی از دو رشته DNA دوگانه تشکیل شده که هر کدام یک کروماتید نام دارند. دو کروماتید توسط سانترومر به هم متصل می شوند. سانترومر علاوه بر نقش در تقسیم سلولی، کروموزوم را به دو بازوی کوتاه تر (p) و بلندتر (q) تقسیم می کند. انواع کروموزوم بر اساس موقعیت سانترومر:

① **متاسنتریک**: سانترومر در وسط کروموزوم
 ② **ساب متاسنتریک**: سانترومر نزدیک تر به یک انتها کروموزوم
 ③ **آکروسنتریک**: شامل پنج جفت کروموزوم هستند که بازوی کوتاه آن ها تغییر یافته و حاوی ژن های rRNA می باشد. این بازوها در انتهای کروموزوم توسط ساختاری به نام ماهواره (ساتلایت)^۱ پوشیده شده اند.

ب انتهای کروموزوم (تلومر): از توالی های تکراری (TTAGGG)_n تشکیل شده و نقش اصلی آن حفظ پایداری کروموزوم است.

① در هر بار تکثیر DNA بخشی از تلومر کپی نمی شود، بنابراین **تلومرها به تدریج کوتاه تر می شوند.**
 ② از بین رفتن تلومرها باعث افزایش ناهنجاری های کروموزومی شده و با فرایندهای سرطان و پیری ارتباط دارد.

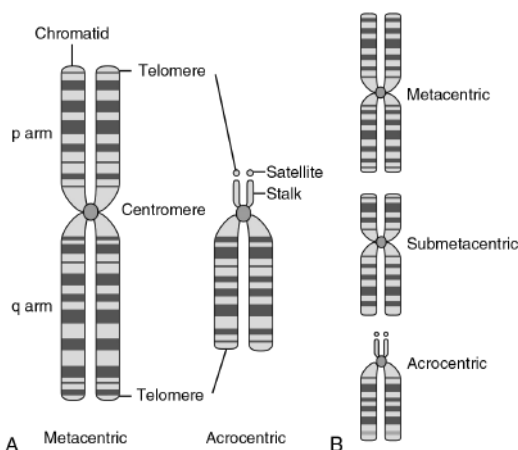


Figure 71-2: Chromosome structure

A Schematic of metaphase chromosome anatomy showing major landmarks. Each chromosome is composed of two chromatids held together by the centromere. The telomere is the end structure of the chromosome. A typical metacentric form is contrasted with an acrocentric having a modified short arm structure composed of stalks and satellites. In all cases, the shorter, or p, arm is oriented up and the longer, or q, arm is oriented down.

B The relative position of the centromere can vary, resulting in metacentric (centromere near the middle), submetacentric (centromere closer to one end), and acrocentric (modified short arm) chromosomes.

سیتوژنتیک (Cytogenetics)



1. Chorionic Villus Sampling

2. Cordocentesis, or percutaneous umbilical blood sampling

سیتوژنتیک (Cytogenetics)

کشت سلول

تعریف: برای ایجاد الگوی نوارها، سلول‌ها پیش از رنگ‌آمیزی معمولاً با تریپسین تیمار می‌شوند تا اتصال پروتئین و DNA کمی ضعیف شود. در نتیجه، کروموزوم‌ها الگوی مشخصی از نوارهای روشن و تیره پیدا می‌کنند که به آن الگوی باندینگ (Banding Pattern) گفته می‌شود. اساس همه روش‌های رنگ‌آمیزی این است که رنگ‌های دارای بار مثبت به DNA با بار منفی متصل می‌شوند و این اتصال موجب ایجاد الگوی نوارها می‌گردد.

انواع

- ۱) **G-banding** رایج‌ترین و پایدارترین روش است و الگوی استاندارد ایده‌گرام (Ideogram) را فراهم می‌کند.
- ۲) در **C-banding**، **سانترومر** و هتروکروماتین پایدار به وضوح رنگ می‌گیرند.
- ۳) در **R-banding** **تلومرها** به صورت نوارهای تیره دیده می‌شوند و همین موضوع تشخیص حذف‌های تلومری را آسان‌تر می‌کند.
- ۴) **Q-banding**، مبتنی بر فلورسانس گذرا است و امروزه بیشتر برای شناسایی سریع **کروموزوم Y** به کار می‌رود.

انواع روش‌های رنگ‌آمیزی کروموزوم‌ها با الگوی باندینگ

روش	اساس کار	ویژگی‌ها	کاربرد اصلی
G-banding (Giemsa banding)	رنگ‌های با بار مثبت (گیمسا یا رایت) پس از تیمار ملایم سلول‌ها با تریپسین، به DNA متصل می‌شوند.	• ایجاد الگوی پایدار • نوارهای روشن و تیره، هر کروموزوم الگوی خاص خود را دارد.	• پرمصرف‌ترین روش • شناسایی کروموزوم‌ها و نواحی آن‌ها
C-banding (Centromere banding)	رنگ‌آمیزی سانترومر در هتروکروماتین پایدار	سانترومر به صورت لکه تیره دیده می‌شود.	تشخیص کروموزوم‌های دی‌سانترومریک (دو سانترومری)
R-banding (Reverse banding)	شرایط حرارتی خاص منجر به الگوی نوارها برعکس G-banding می‌شود.	تلومرها به صورت نوارهای تیره دیده می‌شوند.	تشخیص آسان‌تر حذف‌های تلومری
Q-banding (Quinacrine fluorescence)	رنگ فلورسنت کوئیناکرین به DNA متصل می‌شود.	• فلورسانس گذرا، • رویت نوارهای مشابه G-banding	• امروزه کمتر استفاده می‌شود، • کاربرد اصلی: شناسایی سریع کروموزوم Y (انتهای بازوی بلند Y شدیداً فلورسنت)

کاریوتایپ

- ۱) کاریوتایپ به معنای بررسی تعداد و ساختار کروموزوم‌ها در سلول‌های متافازی است و هدف آن شناسایی سریع و دقیق هر کروموزوم و تشخیص اختلالات عددی یا ساختاری می‌باشد.
- ۲) کاریوتایپ کلاسیک (معمولی) با استفاده از **G-banding**: روش روتین و کافی برای بیشتر تشخیص‌های بالینی؛ الگوی استاندارد نمایش کروموزوم‌ها را فراهم می‌کند.
- ۳) محدودیت: می‌تواند تغییرات بزرگ‌تر از حدود سه مگاباز (Mb) یعنی سه میلیون جفت باز را نشان دهد. تغییرات کوچک‌تر از این اندازه در گروه **Microdeletion** یا **Microduplication** قرار می‌گیرند و نیاز به روش‌های دقیق‌تر مثل **FISH** یا **Microarray** دارند.
- ۴) **High-resolution banding**: به معنای برداشت سلول‌ها در مرحله پرومتافاز است که در این حالت کروموزوم‌ها تراکم کم‌تر دارند و بلندتر هستند و همین ویژگی، تشخیص حذف‌های کوچک را آسان‌تر می‌سازد. حد تشخیص آن بهتر از کاریوتایپ معمولی است، اما همچنان تغییرات خیلی کوچک قابل مشاهده نیستند.

ب) مراحل اصلی کاریوتایپ

- ۱) **شمارش کروموزوم‌ها**
 - ۱) تعداد کروموزوم‌ها بر اساس سانترومرهای فعال تعیین می‌شود.
 - ۲) در سلول دیپلوئید انسانی طبیعی: وجود 46 کروموزوم.
 - ۳) افزایش یا کاهش تعداد کروموزوم‌ها: نشانگر ناهنجاری عددی.
- ۲) **تعداد سلول‌هایی که باید بررسی شوند**
 - ۱) به دلیل احتمال آرتیفک‌های کشت سلول، شمارش کروموزومی فقط یک سلول کافی نیست.
 - ۲) معمولاً 15-20 سلول بررسی می‌شوند.
- ۳) **معیار تشخیص ناهنجاری واقعی**
 - ۱) معیار تشخیص ناهنجاری واقعی این است که اگر سه سلول یا بیشتر همان کاهش کروموزوم را نشان دهند، یا دو سلول یا بیشتر همان افزایش کروموزوم یا بازآرایی ساختاری را داشته باشند، آن تغییر به‌عنوان یک ناهنجاری واقعی در نظر گرفته می‌شود.
 - ۲) در موارد موزائیسیم یا شرایط ویژه، برای افزایش دقت، باید 10 تا 30 سلول اضافی شمارش و بررسی شوند تا وجود یا عدم وجود ناهنجاری به‌طور قطعی مشخص گردد.

۴) **شناسایی کروموزوم‌ها و تهیه کاریوگرام**: در بررسی کاریوتایپ، کروموزوم‌ها بر اساس اندازه، موقعیت سانترومر و الگوی نوارها (معمولاً با روش G-banding) شناسایی می‌شوند و هرگونه تغییر ساختاری باید در همین مرحله مشخص گردد. پس از شناسایی، برای تهیه کاریوگرام، کروموزوم‌ها به ترتیب از بزرگ به کوچک آرایش داده می‌شوند و جایگاه ویژه‌ای برای کروموزوم‌های جنسی در نظر گرفته می‌شود. در این آرایش، بازوی کوتاه (p) در بالا و بازوی بلند (q) در پایین قرار داده می‌شود تا الگوی استاندارد بین‌المللی نمایش کروموزوم‌ها رعایت گردد.

سیتوژنتیک (Cytogenetics)

- ۱ ترکیبی از فناوری های مولکولی و سیتوژنتیک برای بررسی ناهنجاری های کروموزومی.
- ۲ نیازمند پروب DNA تک رشته ای است که با رنگ فلورسنت نشاندار می شود و به ناحیه ای مکمل در کروموزوم متصل می گردد.
- ۳ حضور یا عدم حضور سیگنال فلورسنت نشان دهنده ی وجود یا حذف ناحیه ی مورد نظر است.
- ۴ FISH یک روش هدفمند^۲ محسوب می شود؛ یعنی فقط همان ناحیه ای را نشان می دهد که پروب برای آن طراحی شده است.
- ۵ این روش قابل انجام روی سلول های متافاز (نیازمند کشت سلولی) یا اینترفاز (بدون نیاز به کشت) می باشد.

الف- تعریف

- ۱ کشت سلول ها (فقط در صورت نیاز به سلول های متافاز) و تهیه اسلاید.
- ۲ دناتوره کردن DNA روی اسلاید.
- ۳ هیبریداسیون پروب فلورسنت با ناحیه ی مکمل DNA.
- ۴ شستشوی پروب های اضافی.
- ۵ رنگ آمیزی متقابل برای مشاهده کل کروموزوم ها در هر سلول.
- ۶ بررسی با میکروسکوپ فلورسنت و ثبت تصویر با سیستم دیجیتال. برای جلوگیری از خطا، حداقل 20 سلول باید بررسی شوند. در موارد موزائیسیم، سلول های بیشتری بررسی می شوند.

ب- مراحل انجام

هیبریداسیون
فلورسنت درجا
(FISH)

- ۱ در هر سلول طبیعی (unaffected individual): وجود دو سیگنال برای هر ژن آتوزومی (یک سیگنال از هر کروموزوم همولوگ سالم).
- ۲ در سلول دارای حذف (affected individual): وجود یک سیگنال (یک کروموزوم سالم + یک کروموزوم حذف شده).
- ۳ در سلول دارای دپلیکاسیون: وجود سه سیگنال (دو سیگنال از کروموزوم دپلیکیت شده + یک سیگنال از کروموزوم دیگر).

ب- تفسیر الگوی سیگنال ها

- ت محدودیت: به دلیل محدودیت اُپتیکی فیلترهای میکروسکوپ، حداکثر سه رنگ فلورسنت به طور همزمان قابل مشاهده است.
- ت کنترل هیبریدیزاسیون: همیشه همراه پروب بیماری، یک کنترل پروب برای ناحیه ی دیگر همان کروموزوم دارای ژن اصلی استفاده می شود که همیشه در صورت انجام آزمایش باید دو سیگنال در آن کروموزوم نشان دهد.

ج- انواع پروب های FISH و کاربردها

Chromosome painting probes

- ۱ مجموعه ای از قطعات DNA از کل طول یک کروموزوم که باعث فلورسنت شدن کل کروموزوم می شوند.
- ۲ کاربرد
 - ۱ شناسایی بازآرایی های پیچیده (complex rearrangements)
 - ۲ تعیین منشأ کروموزوم های مارکر یا قطعات اضافی ناشناخته، مثلاً تشخیص اینکه مارکر از X یا Y آمده است.

Repeat sequence probes

- ۱ پروب هایی که به توالی های تکراری (معمولاً اطراف سانترومر یا تلومر) متصل می شوند.
- ۲ کاربرد
 - ۱ شمارش تعداد کروموزوم ها
 - ۲ تشخیص افزایش یا کاهش تعداد کروموزوم ها^۳ (مثل آنیپلوئیدی)
 - ۳ کاربرد رایج در تشخیص پیش از تولد (مثلاً تریزومی 13، 18، 21).

Unique sequence probes

- ۱ از DNA کلون شده ی یک ژن بیماری زا یا ناحیه ی شناخته شده و مشخص مشتق می شوند.
- ۲ کاربرد
 - ۱ تشخیص حذف یا دپلیکاسیون ژنی. (microdeletion/microduplication syndromes)
 - ۲ بررسی وجود یا عدم وجود ژن یا ناحیه ی خاص.
 - ۳ شناسایی بازآرایی های ژنی مرتبط با بیماری ها.

Subtelomere probes

- ۱ یکی از زیرمجموعه های Unique sequence probes است که دارای پروب های اختصاصی برای نواحی نزدیک تلومر هر کروموزوم است.
- ۲ کاربرد
 - ۱ شناسایی حذف های تلومری پنهان (cryptic subtelomeric deletions)
 - ۲ بررسی موارد عقب ماندگی ذهنی بدون علت مشخص.
 - ۳ امروزه استفاده از پروب های ساب تلومری در FISH کمتر شده است، زیرا این روش تا حد زیادی با تکنیک میکروآرری کروموزومی (CMA) جایگزین شده و CMA توانایی بالاتری در شناسایی حذف ها و بازآرایی های پنهان دارد.

1. Fluorescence in situ Hybridization
2. targeted assay
3. aneuploidy detection

خلاصه مروری بر فصل ۷۱

سیتوژنتیک

- ۱- ترکیب سیتولوژی و ژنتیک برای بررسی وراثت در سطح سلولی.
- ۲- مطالعه کروموزوم‌ها در متافاز (بیشترین تراکم) نیازمند کشت سلول.
- ۳- نمونه‌های مورد نیاز برای سیتوژنتیک: خون محیطی، مغز استخوان، فیبروبلاست پوست، آمنیوسنتز، CVS، کوردوسنتز.
- نکته: کشت سلول: نوع معلق (خون، مغز استخوان) یا تک‌لایه (آمنیوسیت‌ها، پرزهای کوریونی).
- ۴- ساختار کروموزوم: دارای سانترومر (متاسنتریک، ساب‌متاسنتریک، آکروسنتریک)، تلومر (پایداری، ارتباط با سرطان و پیری).

جدول جامع نمونه‌ها در سیتوژنتیک

نوع نمونه	شرایط نمونه‌گیری	نوع کشت	زمان کشت	دمای نگهداری و انتقال
مغز استخوان	آسپیراسیون مغز استخوان	معلق	24-48 ساعت	دمای اتاق
خون بند ناف (PUBS)	نمونه‌گیری از بند ناف ≤ 20 هفته		کوتاه‌مدت برای کاربوتایپ سریع	دمای اتاق
خون محیطی هپارینه	نمونه‌گیری ساده با خون‌گیری (فلبوتومی)		لنفوسیت‌ها: 3-4 روز (با تحریک فیتوهمگلوتنین)	دمای اتاق
مایع آمنیوتیک (آمنیوسنتز)	برداشت 20-30 mL مایع در هفته 16-18 بارداری	تک‌لایه	5-7 روز	دمای اتاق
پرزهای کوریونی (CVS)	برداشت بافت جفت در هفته ۱۰-۱۳		5-7 روز	دمای اتاق
فیبروبلاست‌های پوست	بیوپسی یا پانچ پوستی		تا ۲ هفته	روی یخ مرطوب (4°C)
بافت‌های جامد (کبد، کلیه، ریه، عضله)	بیوپسی یا نمونه کالبدشکافی		تا ۲ هفته	روی یخ مرطوب (4°C)
محصولات بارداری (POC)	نمونه حاصل از سقط یا کورتاژ	تک‌لایه (بعثت اختلاط نمونه مادری و جنینی نیاز به دقت دارد)	متغیر (5-14 روز)	بسته به نوع بافت: نمونه مایع در اتاق و نمونه جامد روی یخ مرطوب

روش‌های رنگ‌آمیزی در کاربوتایپ

- ۱- کاربوتایپ: شمارش و شناسایی کروموزوم‌ها. تغییرات بیشتر از 3 Mb قابل مشاهده. قابل انجام روی سلول‌های متافازی.
- ۲- G-banding: رایج‌ترین روش؛ الگوی استاندارد کاربوگرام.
- ۳- C-banding: سانترومر و هتروکروماتین.
- ۴- R-banding: تلومرها؛ تشخیص حذف‌های تلومری.
- ۵- Q-banding: فلورسانس گذرا؛ شناسایی سریع Y.
- نکته: کاربوتایپ High-resolution banding در پرومتافاز؛ تشخیص حذف‌های کوچک‌تر.

FISH و mFISH

- ۱- FISH: پروب DNA فلورسنت؛ روش هدفمند؛ قابل انجام روی سلول‌های فاز متافاز یا اینترفاز.
- ۲- انواع پروب‌های FISH:
 - ۱- Painting probes: فلورسنت کردن کل کروموزوم؛ شناسایی نوآرایی‌های پیچیده.
 - ۲- Repeat sequence probes: اتصال به سانترومر یا تلومر؛ شمارش کروموزوم‌ها و تشخیص آنیپلوئیدی.
 - ۳- Unique sequence probes: بررسی ژن یا ناحیه خاص؛ تشخیص microdeletion/microduplication
 - ۴- Subtelomere probes: نواحی نزدیک تلومر؛ تشخیص حذف‌های پنهان، امروزه بجای آن از روش‌های میکروآرری استفاده می‌شود.
- ۳- mFISH: هیبریداسیون چند پروب؛ بررسی بازآرایی‌های پیچیده، PGD، سرطان.

میکروآرری کروموزومی (CMA)

- ۱- تست genome-wide؛ شناسایی CNVs، آنیپلوئیدی‌ها، ترانسلوکاسیون‌های نامتعادل.
- ۲- حساسیت بالاتر از کاربوتایپ و FISH؛ کاربرد در تأخیر تکاملی، اوتیسم، ناهنجاری‌های مادرزادی، سرطان.
- ۳- انواع آن: SNP-based، Oligonucleotide arrays، Array CGH.
- نکته: کاربوتایپ فقط تغییرات بزرگ‌تر از حدود 3 مگاباز را نشان می‌دهد، در حالی که FISH قادر به تشخیص تغییرات هدفمند در حدود 150 کیلوباز است و میکروآرری با حساسیت بالاتر می‌تواند تغییرات کوچک‌تر و گسترده‌تر در کل ژنوم را شناسایی کند.

خلاصه مروری بر فصل ۷۱



- ۵ کدام گزینه زیر پیرامون تقسیم سلولی و کاربردهای سیتوژنتیک در پاتولوژی مدرن، درست است؟ (۱۳۹۷)
- (الف) در راستای تهیه کاربوتایپ و آنالیز آن، یک مطالعه معمولی بالینی نیازمند آنالیز 35 تا 45 سلول است.
- (ب) سلول‌های خونی و استخوان قادر به رشد در سوسپانسیون نیستند.
- (ج) در میانگین، حدود 6 درصد از جمعیت سلولی انسانی در هر زمان، تقسیم می‌گردند.
- (د) سلول انسانی در میانگین یک بار در هر 24 ساعت تقسیم می‌شود.
- پاسخ: یک سلول انسانی به‌طور متوسط هر 24 ساعت یک بار تقسیم می‌شود، بنابراین در هر لحظه تنها حدود 1٪ از جمعیت سلولی در حال تقسیم هستند.
- تحلیل سایر گزینه‌ها:
- گزینه (ب): سلول‌های خون و مغز استخوان می‌توانند با تکنیک‌های خاص در سوسپانسیون رشد کنند.
- گزینه (الف): برای کاربوتایپ، معمولاً 20-15 سلول بررسی می‌شوند.
- ✓ گزینه صحیح د

- ۶ نوآرایی کروموزومی (Chromosome rearrangement): (q22;q22)t(8;21) متعلق به کدام بیماری یا ناهنجاری است؟ (۱۳۹۷)
- (الف) Chronic myelogenous leukemia (ب) AML with t(8;21)
- (ج) Multiple myeloma (د) Burkitt's lymphoma
- پاسخ: این سوال از جدول 71.3 طراحی شده است:
- (q22;q22)t(21;8) یک ترانسلوکاسیون کلاسیک در AML است، مخصوصاً نوع M2 (AML with maturation) که پیش‌آگهی بهتر نسبت به دیگر زیرگروه‌ها دارد.
- ژن‌های دخیل عبارتند از: RUNX1 و RUNX1T1
- تحلیل سایر گزینه‌ها طبق جدول 71.3:
- گزینه (الف): CML ← معمولاً (q34;q11.2)t(9;22) (ژن‌های دخیل BCR و ABL1)
- گزینه (ج): Multiple myeloma ← ترانسلوکاسیون‌های (q13;q32)t(11;11) (ژن‌های دخیل IGH و CCND1)
- گزینه (د): Burkitt's lymphoma ← معمولاً (q24;q32)t(8;14) (ژن‌های دخیل IGH و MYC)
- ✓ گزینه صحیح ب

جدول 71-3: Common Cytogenetic Rearrangements in Leukemia and Lymphoma

Disorder	Chromosome Rearrangement(s)	Genes Involved
Chronic myelogenous leukemia	t(9;22)(q34.1;q11.2)	BCR; ABL1
Chronic myelogenous leukemia (accelerated or blast phase)	+8, i(17q), +19, +Phr	
Polycythemia vera	+8, +9, del(20q), del(13q)	
Chronic idiopathic myelofibrosis	+8, -7 del(7q), del(11q), del(13q), del(20q)	
Essential thrombocythemia	+8, del(13q)	
Myelodysplastic syndrome with isolated del(5q)	del(5)(q13q33), del(5)(q22q33)	
Chronic myelomonocytic leukemia	-7, del(7q), +8, abnormalities of 12p	
Refractory anemia, refractory anemia with ringed sideroblasts, refractory anemia with excess blasts	-5, del(5q), -7, del(7q), +8, del(20q)	
AML with t(8;21)	t(8;21)(q22;q22)	RUNX1; RUNX1T1
AML with inversion or translocation 16	inv(16)(p12q22), t(16;16)(p13;q22)	CBFβ; MYH11
Acute promyelocytic leukemia	t(15;17)(q22;q12)	PML; RARα
AML with 11q23 (MLL) abnormalities	t(9;11)(p21;q23), t(11;19)(q23;p13.1), t(11;19)(q23;p13.3),	AF9; KMT2A
AML with multilineage dysplasia	-5, del(5q), -7, del(7q), +8, del(11q), del(20q), +21, translocations involving 3q21 and 3q26, t(9;22)(q34.1;q11.2)	KMT2A; ENL
Precursor B-lymphoblastic leukemia/lymphoma	t(1;19)(q23;p13.3)	PBX1; TCF3
	t(9;22)(q34;q11.2)	ABL1; BCR
	11q23 rearrangements, including:	KMT2A
	t(1;11)(p32;q23)	AF1P; KMT2A
	t(4;11)(q21;q23)	AF4; KMT2A
	t(11;19)(q23;p13)	KMT2A; ENL
	t(12;21)(p13;q22)	ETV6; RUNX1
	Hyperdiploidy (modal number 50-56)	
Precursor T-lymphoblastic leukemia/lymphoma	Rearrangements at 14q11.2, 7q35, and 7p14-15	T-cell receptor loci
	del(9p)	CDKN2A
	Translocations at 1p32	TAL1
Mature B-Cell Neoplasms		
Chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic leukemia	+12, del13q, del11q23-24, 14q+, del17p13	
Lymphoplasmacytic lymphoma/Waldenström macroglobulinemia	t(9;14)(p13;q32)	PAX5; IGH
Multiple myeloma	t(11;14)(q13;q32)	CCND1; IGH
Marginal zone B-cell lymphoma (MALT)	t(11;18)(q21;q21), +3	BIRC3; MALT1
Follicular lymphoma,	t(14;18)(q32;q21), +7, +18, t(18;22)(q21;q11.2), del(6q),	IGH; BCL2 BCL2; IGL
Diffuse large B-cell lymphoma	del/t(3)(q27)	BCL6
Mantle cell lymphoma	t(11;14)(q13;q32)	CCND1; IGH
Burkitt lymphoma	(8;14)(q24;q32)	MYC; IGH
	t(2;8)(p12;q24)	IGK; MYC
	t(8;22)(q24;q11.2)	MYC; IGL

(۱۳۹۸)

۷ تکنیک FISH در کدام یک از مراحل چرخه سلولی قابل انجام است؟

- (الف) متافاز و آنافاز (ب) متافاز و پروفاز
(ج) متافاز و تلوفاز (د) متافاز و اینترفاز

پاسخ: FISH می‌تواند روی کروموزوم‌های متافازی (برای دیدن ساختار کروموزومی کامل و شناسایی ترانسلوکاسیون‌ها و مارکر کروموزوم‌ها) و اینترفازی (برای شمارش تعداد کپی ژن، تشخیص **aneuploidy** و **microdeletion**) انجام شود.

✓ گزینه صحیح د

۸ در حالیکه نوزاد از نظر اندام جنسی نامشخص باشد (**Ambiguous genitalia**)، جهت تشخیص سریع وجود یا عدم وجود کروموزوم Y از کدام تکنیک در کاریوتیپ استفاده می‌شود؟

- (الف) G-banding (ب) Q-banding
(ج) C-banding (د) R-banding

پاسخ: **Q-banding (quinacrine fluorescence)** برای تشخیص سریع کروموزوم Y استفاده می‌شود، مخصوصاً در نوزاد با اندام جنسی نامشخص.

✓ گزینه صحیح ب

(۱۳۹۹)

۹ شایع ترین نوع **Robertsonian translocation** بین چه کروموزوم‌هایی اتفاق می‌افتد؟

- (الف) Non homologous acrocentric (ب) Homologous acrocentric
(ج) Non homologous metacentric (د) Homologous metacentric

پاسخ: **Robertsonian translocation** بین کروموزوم‌های آکروسانتريک 13؛ 14 و 14؛ 21 غیرهمولوگ رخ می‌دهد (نه بین همولوگ یا متاسنتريک‌ها).

✓ گزینه صحیح الف

۱۰ اندازه کوچک ترین قطعه حذف شده یا مضاعف شده کروموزومی که با روش کاریوتیپ معمولی قابل مشاهده می‌باشد در کدام حدود قرار دارد؟

- (الف) 3 کیلو باز (ب) 30 کیلو باز
(ج) 3 مگا باز (د) 30 مگا باز

پاسخ:

- کاریوتایپ معمولی (**G-banding**) می‌تواند تغییرات ≤ 3 مگاباز (Mb) را مشاهده کند.
- تغییرات کوچکتر، مثل کیلوبازها (kb) معمولاً با **FISH** یا تکنیک‌های مولکولی قابل شناسایی هستند، نه کاریوتایپ معمولی.

✓ گزینه صحیح ج

۱۱ در تکنیک FISH در هنگام استفاده از سلول‌های متافازی اطلاعات ضروری معمولاً از مشاهده حدود چند سلول به دست می‌آید؟

- (الف) 20 (ب) 50
(ج) 200 (د) 500

پاسخ:

- بررسی سلول‌های متافازی در تکنیک **FISH**: داده‌های ضروری معمولاً با مشاهده حدود ۲۰ سلول به دست می‌آید.
- دلیل: کروموزوم‌ها در متافاز کوتاه و متراکم هستند و هر کروماتید قابل مشاهده است، بنابراین مشاهده تعداد کمی سلول کافی است.
- بررسی سلول‌های اینترفازی در تکنیک **FISH**: برای به دست آوردن داده‌های آماری دقیق در مورد فراوانی کلون‌های بیماری، نیاز به تعداد بیشتری از سلول‌ها، یعنی حدود 200-500 سلول است.
- دلیل: کروموزوم‌ها در اینترفاز پراکنده و غیرمتراکم هستند و برای برآورد آماری دقیق تعداد بیشتری سلول لازم است.

✓ گزینه صحیح الف

۱۲ در کاریوتایپ فردی که ناقل یک جابجایی کروموزومی روبر تسونیان می‌باشد. تعداد کروموزوم‌ها چند عدد است؟

- (الف) 44 (ب) 45
(ج) 46 (د) 47

پاسخ:

- جابجایی کروموزومی روبر تسونیان فقط بین دو کروموزوم آکروسنتريک رخ می‌دهد.
- دو کروموزوم در اثر این ترانسلوکاسیون به هم می‌چسبند و یک کروموزوم واحد با یک سانترومر مشترک می‌سازند.
- بنابراین فرد ناقل یک کروموزوم کمتر دارد: یعنی 45 کروموزوم به جای ۴۶.
- از دست رفتن بخش کوتاه کروموزوم‌ها در خود فرد مشکلی ایجاد نمی‌کند، اما شمارش کروموزوم‌ها ۴۵ می‌شود.

✓ گزینه صحیح ب

(۱۴۰۴)

۲۱ کدام ناحیه از کروموزوم 21 به عنوان Down syndrome-critical region شناخته می‌شود؟

q22.2-q22.3 (د)

q21.1-q21.3 (ج)

q11.1-q11.2 (ب)

p11.1-p11.2 (الف)

پاسخ:

- ناحیه‌ی Down syndrome-critical region (DSCR) روی بازوی بلند کروموزوم 21 (21q) قرار دارد.
 - مطالعات مولکولی نشان داده‌اند که افزایش دوز ژنی (وجود سه نسخه) از یک ناحیه‌ی مشخص روی کروموزوم 21، برای بروز فنوتیپ سندرم داون کافی است.
 - این ناحیه‌ی بحرانی عمدتاً شامل باندهای 21q22.12 تا 21q22.3 بوده و به همین دلیل به عنوان Down syndrome-critical region (DSCR) شناخته می‌شود.
- توجه: باند q21 خارج از ناحیه‌ی بحرانی است و با عدد کروموزوم 21 اشتباه نشود.

✓ گزینه صحیح د