



آزمایشگاه پاتوبیولوژی و ژنتیک

پارسه

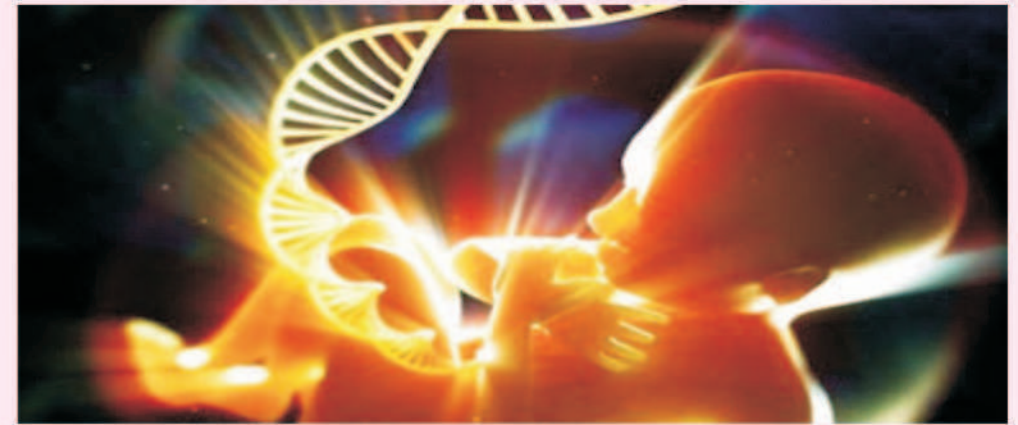


نماب ۳۸ (نشریه ماهانه آزمایشگاه پارسه)

تست غیر تهاجمی تشخیص پیش از تولد سندروم داون،

تریزومی های ۱۸، ۱۳ و سایر آنوپلوئیدی ها (NIPT or NIFTY)

در سال ۱۹۹۷ دانشمندان به وجود DNA جنین در خون زنان باردار پی بردند. این کشف مهم که با ردیابی قسمت هایی از کروموزوم Y جنین در سرم مادر توسط Dennis Lo صورت گرفت، اساسی شد برای ظهور روش های غیر تهاجمی تشخیص آنوپلوئیدی ها در دوران بارداری، اصول این روش بر پایه اندازه گیری DNA آزاد در پلاسمای مادر است که از سلول های جفت آزاد می شوند. صاحب نظران این کشف را انقلابی در علوم پره ناتولوژی دانسته و پیش بینی می کنند که در آینده نزدیک تست های مبتنی بر آن، جایگزین روش های رایج غربالگری و آزمایش های تشخیصی دوران بارداری گردد.



صاحب نظران کشف وجود DNA جنین در خون مادر را یک انقلاب در علوم تشخیصی می دانند و امیدوارند که در آینده نزدیک روش های مبتنی بر اندازه گیری این DNA جایگزین تست های رایج غربالگری گردد.

در روش تهاجمی علاوه بر احتمال سقط جنین (۲ تا ۴ درصد) فشار روحی قابل توجه به مادر، دردناک بودن روش نمونه گیری و ریسک عفونت های داخل رحمی نیز قابل ذکر میباشند. اصولاً انتخاب بین تست های سنتی غربالگری که در آن احتمال خطا بالاست و آمنیوسنتز یا CVS که احتمال سقط جنین را به همراه دارند برای زنان باردار دشواری است. همچنین از نظر زمانی نیز انجام روش های غربالگری که در سه ماهه دوم بارداری امکان پذیر می باشد محدودیت های زمانی را نیز برای تصمیم گیری در مورد سقط قانونی یا نگهداشتن جنین به همراه دارد. علاوه بر آن در بسیاری از موارد در صورت مثبت یا مشکوک بودن تست غربالگری در سه ماهه اول، بیمار مجبور به انجام تست تأییدی در سه ماهه دوم خواهد بود و در طول این مدت تا انجام و دریافت نتیجه آزمایش دچار استرس و نگرانی می شود.

پیشهادات:

- ۱- خانم های باردار باید قبل از تصمیم گیری در مورد انتخاب روش مورد استفاده برای غربالگری و یا تأیید نتیجه مثبت (پرخطر) در روش های رایج غربالگری، مورد مشاوره قرار گرفته و از مزایا و معایب همه روش های موجود مطلع گردند.
- ۲- یکی از کاربرد های این تست برای کسانی است که از نحوه نمونه گیری روش های تهاجمی وحشت دارند.
- ۳- انجام تست NIPT برای زنانی که نمی توانند خطر سقط در روش های تهاجمی را بپذیرند مانند زنانی که پس از درمان های طولانی و پرهزینه و یا در سنین بالا باردار شده اند.

تهران - خیابان جناح - بالاتر از بلوار شهید گلاب

ترسیده به فلکه دوم صادقیه - نبش کوچه عابدزاده

ساختمان پزشکان پارسه - طبقات اول تا چهارم

تلفن و دورنگار: ۵ - ۴۴۲۸۷۶۳۲

www.ParsehLab.com

www.ParsehLab.net

info@parsehlab.com

روش مولکولی غیر تهاجمی برای تشخیص تریزومی های ۲۱، ۱۸ و ۱۳

در سال ۱۹۹۷ دانشمندان به وجود DNA جنین در خون زنان باردار پی بردند. این کشف مهم که با ردیابی قسمت هایی از کروموزوم Y جنین در سرم مادر توسط Dennis Lo صورت گرفت، اساسی شد برای ظهور روش های غیر تهاجمی تشخیص آنپلوئیدی ها در دوران بارداری، اصول این روش بر پایه اندازه گیری DNA آزاد در پلاسماي مادر است که از سلول های جفت آزاد می شوند. صاحب نظران این کشف را انقلابی در علوم پره ناتولوژی دانسته و پیش بینی می کنند که در آینده نزدیک تست های مبتنی بر آن، جایگزین روشهای رایج غربالگری و آزمایش های تشخیصی دوران بارداری گردد.

به طور کلی تمرکز برنامه های غربالگری دوران بارداری بر روی تشخیص سندروم داون، (۱)NTDs و دو آنپلوئیدی اتوزومال دیگر که کمتر شایع هستند یعنی تریزومی ۱۸ (سندروم ادوارد) و تریزومی ۱۳ (سندروم Patau) است. سندروم داون یا تریزومی ۲۱ شایعترین آنپلوئیدی در انسان با شیوع تقریباً ۱ در ۸۰۰ است. ریسک ابتلا جنین به سندروم داون با افزایش سن زیاد می شود بطوریکه یک خانم ۴۵ ساله دارای ریسک ۱ به ۳۵ است. امروزه پیشرفت های علم پزشکی درمان اکثر مشکلات مبتلایان به این سندروم را امکان پذیر ساخته است. به گونه ای که افراد با سندرم داون تاسنین بالا (حدود ۵۵ سالگی) می توانند زندگی کنند.

تکنیک آزمایش به این صورت است که ابتدا 500 bp از فراگمنت های DNA جنین در خون مادر تعیین توالی شده سپس با استفاده از محاسبات و نقشه برداری های بیوانفورماتیک تعداد کروموزوم های جنین محاسبه می شود نیمه عمر این DNA بسیار کوتاه بوده و کمتر از ۲ ساعت می باشد و بلافاصله بعد از تولد از خون مادر محو می گردد. بنابراین بارداری های قبلی اختلالی در نتیجه تست ندارد. برای جلوگیری از کاهش میزان DNA برای انجام این آزمایش خون مادر در لوله های حاوی ماده مخصوصی گرفته میشود که مقدار DNA موجود در خون مادر را ثابت نگه مدارد.

مطالعات پرجمعیت تری اخیراً گزارش شده است که میزان تشخیص (Detection Rate) این روش را برای تریزومی ۲۱ به میزان ۹۹/۹ درصد و با ویژگی ۹۹/۷ تا ۹۹/۹ درصد حتی در مورد دوقلو ها نشان می دهد در این تست جنسیت جنین و همچنین آنپلوئیدی های کروموزوم های جنسی مانند سندرم ترنر نیز از هفته دهم قابل تشخیص است. در این روش بدون نیاز به سلول های بافت جفت (CVS) یا نمونه گیری از مایع آمنیوتیک (آمنیو سنتز). از چند میلی لیتر خون وریدی مادر استفاده می شود. در این روش علاوه بر این که در یک تست همزمان تریزومی های ۲۱، ۱۸ و ۱۳ با حساسیت بیشتر از ۹۹/۹ درصد بررسی میشوند. درصد موارد مثبت و منفی کاذب نیز به میزان کمتر از ۱/۰ درصد کاهش می یابد.

باید توجه داشت که انجام این تست، نیاز به آزمایش (5) AFP را برای بررسی نقص لوله عصبی و NTD در سه ماهه دوم از بین نبرده و خانم باردار باید حتما در هفته های ۱۵ تا ۲۰ بارداری مجدداً به آزمایشگاه مراجعه نماید.

هنوز در مورد کسانی که نتیجه تست Cell Free DNA آنها مثبت (پرخطر) می شود باید تست تأییدی مانند CVS یا آمنیو سنتز انجام شود. ولی با توجه به درصد مثبت کاذب بسیار پایین. تعداد مواردی که نیاز به این کار می باشد بسیار اندک خواهد بود.

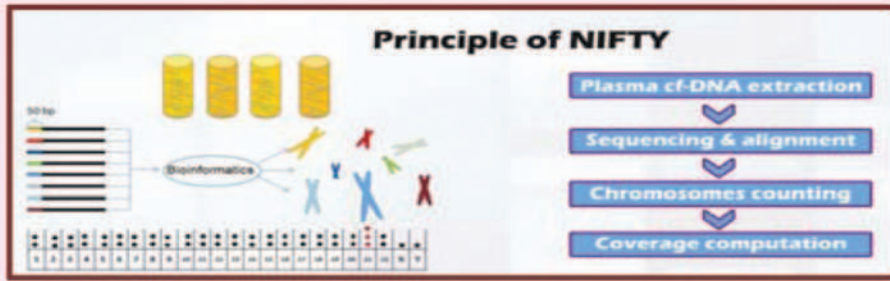
تریزومی های ۱۸ و ۱۳ نیز مانند سندرم داون در سه ماهه اول و دوم شایع تر از موقع زایمان بوده و به میزان زیادی سقط خودبخودی در آنها اتفاق می افتد. مبتلایان به تریزومی ۱۸ و ۱۳ دارای عمر کوتاه مدتی بوده و فقط ۵-۱۰ درصد آنها تا یکسالگی زنده می مانند. در طی

دو دهه اخیر روش های مختلفی شامل اندازه گیری مارکرهای شیمیایی و پارامترهای سونوگرافی و همچنین ترکیب این دو باهم برای غربالگری سندرم داون ابداع شده است اما به علت اشکالات موجود در این روش ها، دانشمندان همیشه به دنبال یافتن روش هایی بهتر بودند.

بزرگترین ایراد در روشهای سنتی غربالگری، درصد بالای نتایج مثبت و منفی کاذب و در تست های تأییدی احتمال سقط جنین به علت تهاجمی بودن روش نمونه گیری است. از دیگر نکات منفی روش های غربالگری رایج می توان به چند مرحله ای بودن پروسه آزمایش، نتایج غیر اختصاصی و گاهی گیج کننده و غیر قابل تصمیم گیری و در نتیجه افزایش ریسک استفاده از روش های تهاجمی اشاره کرد.

در سال ۱۹۹۷ دانشمندان به وجود DNA جنین در خون زنان باردار پی بردند. این کشف مهم که با ردیابی قسمت هایی از کروموزوم Y جنین در سرم مادر توسط Dennis Lo صورت گرفت، اساسی شد برای ظهور روش های غیر تهاجمی تشخیص آنپلوئیدی ها در دوران بارداری، اصول این روش بر پایه اندازه گیری DNA آزاد در پلاسماي مادر است که از سلول های جفت آزاد می شوند. صاحب نظران این کشف را انقلابی در علوم پره ناتولوژی دانسته و پیش بینی می کنند که در آینده نزدیک تست های مبتنی بر آن، جایگزین روشهای رایج غربالگری و آزمایش های تشخیصی دوران بارداری گردد.

بالاخره موفقیت واقعی در سال ۲۰۰۸ حاصل شد زمانی که دو گروه مستقل از محققین با مطالعه بر روی دو جمعیت ۱۸ و ۱۴ تایی از جنین های مبتلا به آنپلوئیدی، قدرت تشخیص تریزومی های جنین را با استفاده از تکنیک Masively Par-allele Sequencing با درستی ۱۰۰٪، به اثبات رساندند.



آزمایش Cell Free DNA می تواند جنسیت جنین را از هفته ۱۰ به بعد تشخیص دهد.

به منظور آشنایی بیشتر با ارقام مورد بحث اگر فرض کنیم که کل موارد بارداری در ایران سالانه یک میلیون و سیصد هزار مورد باشد در صورت انجام غربالگری با روش جدید NIPT منافع ذیل قابل دستیابی است:

- ۱- در روش رایج تعداد بیمارانی که با نتیجه مثبت کاذب جهت انجام آزمایش تأییدی آمنیو سنتز معرفی می شوند تقریباً ۶۵۰۰ بیمار است اما با روش NIPT تنها ۴۴۲ نفر خواهند بود. بدین معنی که سالانه بیش از ۶۴۵۰۰ مورد انجام روش آمنیو سنتز کمتر در خواست می شود.
- ۲- تعداد موارد سقط جنین به دلیل ارجاع جهت نمونه گیری تهاجمی در روش اول تقریباً ۲۰۰ و در روش جدید فقط ۱۳ مورد می باشد.
- ۳- موارد منفی کاذب در روش غربالگری سنتی تقریباً ۳۲۵ مورد است. اما در روش جدید ۱ یا ۲ مورد خواهد بود یعنی ۳۲۳ بیمار کمتر در یک سال.

مقایسه روش های غربالگری سندرم داون

روش	قدرت تشخیص	مثبت کاذب	سن بارداری	ماهیت روش
غربالگری با استفاده از مارکرهای شیمیایی، خون مادر	70% - 90%	5%	11-13 15-20	غیر تهاجمی
سونوگرافی NT	60% - 80%	5%	11-13	غیر تهاجمی
CVS	>99%	0	10-13	تهاجمی
آمنیو سنتز	>99%	0	16-21	تهاجمی
Cell Free DNA	>99.9%	0.034%	10-24	غیر تهاجمی

مزایای تست :

غیر تهاجمی بودن: برای انجام آزمایش فقط به چند میلی لیتر از خون مادر احتیاج است.

حساسیت و صحت بالا: مطالعات بر روی جمعیت های بزرگ ویژگی و حساسیت ۹۹/۹ درصد را نشان داده است.

تشخیص زود هنگام: آزمایش از هفته دهم بارداری قابل انجام بوده و این به تصمیم گیری بهتر کمک می کند.

اگرچه تا سال ۲۰۱۳ تحقیقات بر روی مفید بودن این تست در مورد بارداری های پرخطر انجام گرفته ولی در سال ۲۰۱۴ دو مرکز بسیار معتبر یعنی کالج ژنتیک پزشکی آمریکا (ACMG) و کالج سلطنتی بیماری های زنان و زایمان (RCOG) و همچنین پروفیسور Kypros Nicolaidis کاربرد NIPT را به عنوان یک تست غربالگری با حساسیت بالا پیشنهاد کرده اند.

زمان جوابدهی: نتیجه این تست طی ۲ هفته پس از نمونه گیری ارائه می شود که در مقایسه با روش آمنیو سنتز یا CVS که حدوداً بین ۳ تا ۴ هفته طول می کشد سریع تر است.

موارد کاربرد:

به عنوان یک تست مرحله دوم. در مورد کسانی که دارای نتیجه پرخطر در روش های غربالگری رایج هستند برای کاهش تعداد آمنیوسنتز و در نتیجه کاهش موارد سقط.

به عنوان یک تست غربالگری با قدرت تشخیص بسیار بالا. برای کسانی که نمی خواهند میزان ریسک منفی کاذب. در روش های رایج غربالگری را بپذیرند. یک انتخاب به عنوان یک تست تأییدی برای زنانی که قادر به پذیرش خطر روش های تهاجمی نیستند. و یا از نحوه نمونه گیری در روش های تهاجمی وحشت دارند یک انتخاب برای مواردی که کشت سلولی با شکست مواجه می شود.

تشخیص آنپلوئیدی ها در دوقلو ها نیز با انجام NIPT میسر است