

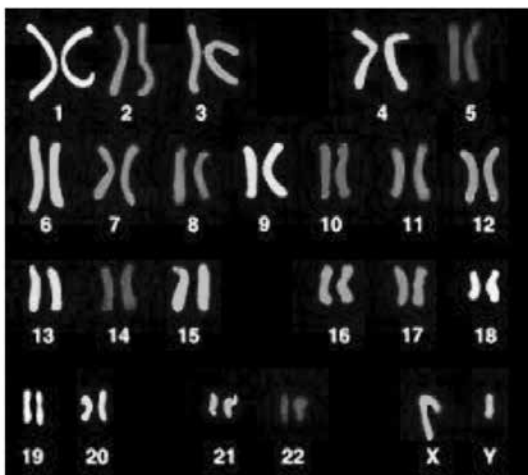
## تست ژنتیکی تعیین سلامت جنین با روش QF-PCR

- جواب سونوگرافی حین بارداری، مشکوک به اختلال کروموزوم در جنین باشد.
- داشتن فرزند مبتلا به اختلال کروموزومی (زنده یا فوت شده)
- داشتن اختلال کروموزومی متعادل در خود یا همسر
- درخواست آزمایش کروموزومی حین بارداری توسط پزشک

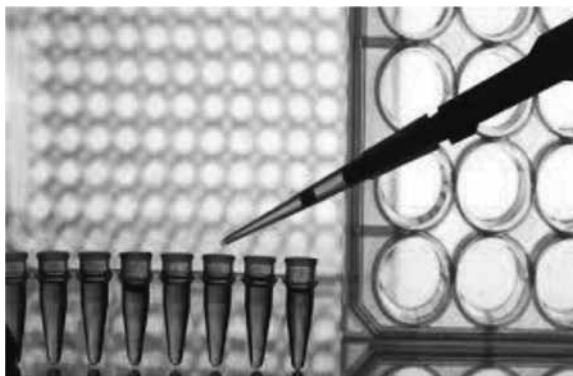
- انواع تست‌های تشخیصی ژنتیکی بعد از انجام تست های اولیه غربالگری چیست؟
- کاریوتایپ جنین (از نمونه آمیون یا پرزهای کوریونی)
  - هیبریداسیون فلورسانس درجا (FISH)
  - تست QF-PCR

### آزمایش کاریوتایپ چیست؟

مجموعه ویژگی های کروموزومی یک گونه مشخص را کاریوتایپ می گویند. در کاریوتایپ بررسی شماری و ساختاری کروموزوم ها انجام می شود. یکی از روش های



تشخیص پیش از تولد آنپلوتیدی های کروموزومی، بیشتر با روش های استاندارد سیتوژنتیک همانند کاریوتایپ انجام می شود. این پدیده در همه سلول ها و گاهی به صورت موزائیک در برخی از آنها دیده می شود. تشخیص پیش از تولد ناهنجاری های کروموزومی با استفاده از کشت سلول های جنینی حاصل از آمنیوسنتز یا بیوپسی از جفت امکان پذیر شده است. اگرچه با استفاده از آزمایش کاریوتایپ، امکان تشخیص تغییرات عددی و ساختمانی کروموزوم ها فراهم است، لیکن انجام این تست مستلزم صرف وقت طولانی و انجام تکنیک های متعدد است. لذا آزمایش QF-PCR مخصوصاً در مواردی که محدودیت زمانی برای انجام آزمایش کاریوتایپ وجود دارد، مناسب تر است. از آنجایی که در ایران بعد از هفته ۱۸ بارداری سقط درمانی غیر قانونی است لازم است نتایج همه آزمایش ها تا قبل از اتمام هفته ۱۸ بارداری مشخص شوند. لذا توصیه می شود چنانچه در مراجعات خانم ها برای انجام آزمایش های کروموزومی، سن بارداری بعد از هفته ۱۵ باشد از روش بررسی سریع اختلال کروموزومی موسوم به QF-PCR استفاده کرد. این روش معمولاً در عرض ۴۸ ساعت به نتیجه می رسد ولی بررسی کروموزومی ۲-۴ هفته به طول می انجامد.



بررسی کروموزومی نمونه جنینی برای چه کسانی سفارش می شود؟

- سن بالای ۳۵ سال در هنگام بارداری
- جواب آزمایش های غربالگری بارداری (موسوم به تست سه گانه یا چهارگانه، Triple Test, Quadruple Test)

مشکوک به وجود اختلالات کروموزومی باشد.

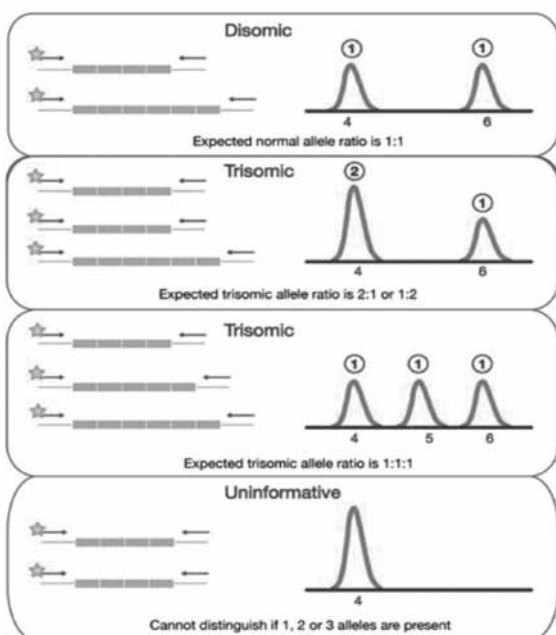
## تست (QF-PCR) چیست؟

کیو اف پی سی آر (Quantitative Fluorescence-Polymerase Chain Reaction) QF-PCR merase Chain Reaction) یک روش آزمایشگاهی ارزان، سریع و قابل اطمینان برای تشخیص ناهنجاری در کروموزوم های ۱۳، ۱۸، ۲۱، X و Y (ناهنجاری های شایع تر) است. در این روش بخش کوچکی از DNA جنین را تکثیر کرده و یکسری از جایگاه ها یا (Short Tandem Repeat) STR راروی DNA مورد بررسی قرار می دهد. QF-PCR به طور عمده به عنوان یک آزمون سریع قبل از تولد برای تشخیص تریزومی های شایع ۲۱، ۱۸، ۱۳ و تریزومی های جنسی X و Y استفاده می شود که شایع ترین آنها ۲۱ است. با استفاده از روش QF-PCR ناهنجاری های کروموزومی تا حدود ۹۹٪ از خانواده های مراجعه کننده می تواند قابل تشخیص باشد.

مزایای اصلی روش QF-PCR دقت، سرعت و کم هزینه بودن این تست نسبت به دیگر تست های ژنتیکی است که این امکان را به وجود می آورد ناهنجاری های کروموزومی پیش از تولد تشخیص داده شوند. این احتمال وجود دارد که در آینده ای نزدیک، این روش جایگزین روش های ژنتیکی شود.

### تست QF-PCR در چه مواردی استفاده می شود؟

- بررسی سلامت جنین در صورت مشکوک بودن نتایج غربالگری سه ماهه اول



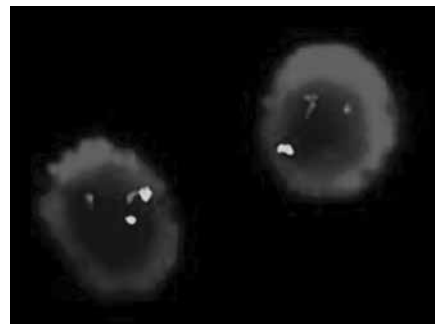
تشخیصی دقیق و مهم در پزشکی برای تشخیص تعداد زیادی از بیماری های ژنتیکی است. بررسی تغییرات کروموزومی در یک فرد با انجام آزمایش کاریوتیپ امکان پذیر است. کاریوتیپ تصویری است که از کروموزوم های یک فرد گرفته می شود و در آن تعداد و ساختار کروموزوم ها مشخص می شود. این آزمایش شامل بررسی میکروسکوپی کروموزوم های افراد و مرتب کردن آنها بر اساس ویژگی های خاص است. به این ترتیب می توان تغییر در تعداد کروموزوم ها و یا تغییرات بزرگ ساختاری آنها را تشخیص داد. در نوع اصلاح شده این آزمایش که کاریوتیپ با قدرت تفکیک بالا نام دارد می توان تغییرات کروموزومی کوچک تر را تشخیص داد. برای انجام آزمایش کاریوتیپ ابتدا سلول های خون، مغز استخوان، یا بافت های جنینی، در محیطی سرشار از مواد غذایی، ویتامین های لازم و در حضور مواد تحریک کننده رشد سلولی تکثیر می شود. سپس سلول ها در مرحله ای از چرخه سلولی که در آن کروموزوم ها قابل تشخیص باشند متوقف می شوند. در مرحله بعدی کروموزوم ها رنگ آمیزی و به دقت زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار می گیرند. سپس از آن ها عکس تهیه می شود و ترتیب کروموزوم ها مشاهده می شود. آزمایش کاریوتیپ معمولاً به صورت G-Banding معمولی و یا با تفکیک پذیری بالا انجام می گیرد.

مراحل انجام آزمایش شامل: کشت، برداشت، لام گیری یا گستره کروموزومی، رنگ آمیزی کروموزوم ها و بررسی دقیق زیر میکروسکوپ است.

### تست هیبریداسیون فلورسانس درجا (FISH) چیست؟

در روش FISH از پروب هایی نشاندار شده با رنگ های فلورسانس و از جنس DNA و مکمل مناطق خاصی از کروموزوم استفاده می شود. این پروب ها به طور اختصاصی به محل خود چسبند و نور ساطع شده از آنها با میکروسکوپ فلورسانس مشاهده می شود. در صورت عدم وجود آنوپلوئیدی از هر پروب دو نشان،

در صورت وجود تریزومی سه نشان و در صورت وجود مونوزومی یک نشان مشاهده می شود.



با استفاده از نمونه غیر زنده (مانند جنین سقط شده یا مرده زاد یا فوت بعد از تولد) می توان آزمایش QF-PCR را انجام داد ولی با روش های سیتوژنتیکی نمونه می بایست از موجود زنده تهیه شود.

### نمونه های مورد نیاز جهت انجام QF-PCR

با این روش می توان بر روی نمونه های پرزهای جنینی (CVS) در هفته های ۱۰ تا ۱۲ یا مایع آمنیون در هفته ۱۴ تا ۱۶ بررسی ها انجام گردد. در برخی موارد که در هنگام نمونه برداری، نمونه جنینی با خون مادر آلوده می شود، نمونه خون وریدی مادر هم مورد نیاز خواهد بود تا بتوان با کمک این روش احتمال آلودگی نمونه جنینی با سلول های مادر را تعیین نمود.

### محدودیت های تکنیک QF-PCR چیست؟

- در این روش درجات پائین موزائیسیم و آنپلوئیدها، که سلول های ناهنجار کمتر از ۱۵ تا ۲۰ درصد از رده سلولی را تشکیل دهند، قابل تشخیص نیستند.
- روشی قابل اطمینان برای تشخیص حذف های کروموزومی نیست.

- در موارد بسیار نادری جواب آزمایش نمی تواند گویای وضعیت کلیه مارکرها بر روی یک یا چند کروموزوم باشد. در این موارد نمونه ها به روش FISH یا کاریوتایپ مورد بررسی قرار خواهند گرفت.

- در حال حاضر این روش قادر به بررسی همه کروموزوم ها نمی باشد و تنها ۵ کروموزوم ۲۱ و ۱۸ و ۱۳ و X و Y را شناسایی می نماید.

- همچنین این روش قادر به شناسایی نقص های ساختاری در هیچیک از کروموزوم ها نیست.

### QF PCR در چه مواردی استفاده می شود؟

- تشخیص سریع اختلالات کروموزوم های آتوزوم شامل سندرم داون (+۲۱)، سندرم ادوارد (+۱۸) و سندرم پاتو (+۱۳)

- بررسی سلامت جنین در صورت مشکوک بودن نتایج غربالگری سه ماهه اول

- تعیین جنسیت جنین
- تشخیص سریع اختلالات کروموزوم های آتوزوم شامل سندرم داون (+۲۱)، سندرم ادوارد (+۱۸) و سندرم پاتو (+۱۳)
- تشخیص سریع اختلالات کروموزوم های جنسی X و Y (سندرم ترنر XO، سندرم کلاین فلتر XXY، سندرم X سه گانه XXX، سندرم جاکوب XYY)
- تشخیص انواع پلی پلوئیدی (تریپلوئیدی) در جنین یا جنین سقط شده
- بررسی سریع اختلالات کروموزومی در مواردی که امکان کشت سلولی فراهم نباشد و یا زمان کافی برای کشت سلولی ندارند.

### مراحل کار QF-PCR چگونه است؟

- ۱) درخواست آزمایش توسط پزشک
- ۲) مراجعه به پزشک متخصص زنان و زایمان جهت اخذ نمونه جنینی (پرزهای کوریونی و یا مایع آمنیون)
- ۳) استخراج DNA از نمونه جنینی
- ۴) انجام PCR با استفاده از کیت اختصاصی QF-PCR
- ۵) آنالیز نمونه ها درون دستگاه Genetic Analyzer
- ۶) آنالیز پایانی نمونه ها با استفاده از نرم افزار Mapper Gene

### تفاوت های روش QF-PCR با روشهای سیتوژنتیکی

#### مرسوم (FISH و تهیه کاریوتایپ) چیست؟

در روش QF-PCR برخلاف روش کاریوتایپ نیازی به کشت سلولهای آمنیون نمی باشد. لذا در هزینه و زمان صرفه جویی خواهد شد.

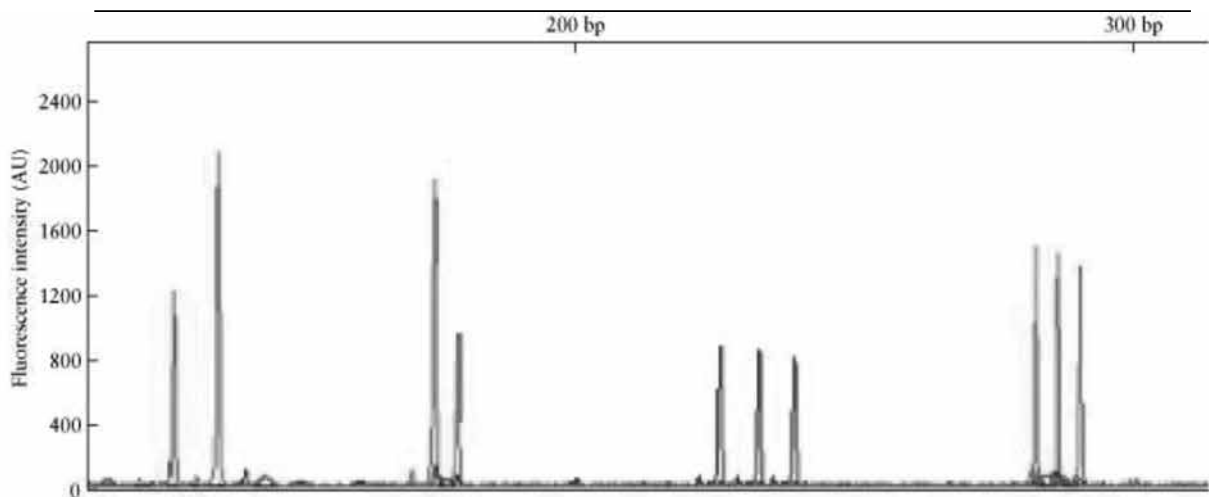
در مقایسه با هزینه کمابیش بالای آزمایش های کروموزومی هزینه این آزمایش کمتر از نصف می باشد.

هزینه ی FISH برای فرد در مقایسه با روش QF-PCR بیشتر است.

در مواردی که نمونه جنینی با سلولهای مادری آلوده شده باشد، امکان رسیدن به جواب صحیح توسط QF-PCR نسبت به دو تکنیک دیگر بیشتر خواهد بود.

دقت این روش در مقایسه با روش های سیتوژنتیکی بیش از ۹۹ درصد است.

بررسی با روش های تهیه کاریوتایپ می تواند تا ۲ هفته طول بکشد. با روش مولکولی QF-PCR به کمتر از ۴۸ ساعت زمان نیاز است.



Families Using QF-PCR. gene3m. 2011;9(2):2360-6.

Yi W, Yan-Lin W, Chun-Min L, Xu H, Wen-Jing H, et al (2015) Comparison of Quantitative Fluorescent Polymerase Chain Reaction (QF-PCR) and Conventional Cytogenetic Analysis in Detection of Fetal Aneuploidies. J Womens Health, Issues Care 4:6.

Comas C, Echevarria M, Carrera M, Serra B. Rapid aneuploidy testing versus traditional karyotyping in amniocentesis for certain referral indications. The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine. 2010;23(9):949-55.

● تعیین جنسیت جنین

● تشخیص سریع اختلالات کروموزومی های جنسی X و Y (سندرم ترنر XO، سندرم کلاین فلتز XXY، سندرم X سه گانه XXX، سندرم جاکوب XYY)

● تشخیص انواع پلی پلوئیدی (تریپلوئیدی) در جنین یا جنین سقط شده

● بررسی سریع اختلالات کروموزومی در مواردی که امکان کشت سلولی فراهم نباشد و یا زمان کافی برای کشت سلولی ندارند.

منابعی برای مطالعه بیشتر:

1) Prenatal Screening for Aneuploidy in Iranian

### فرم اشتراک ماهنامه **نیشخبر زیست‌شناسی** ۱۳۹۶

نام و نام خانوادگی: ..... رشته/تخصص: ..... کد ملی: .....  
 نام محل کار: ..... مسئولیت: .....  
 نشانی: .....  
 کدپستی: ..... تلفن: ..... فاکس: .....  
 موبایل: ..... ایمیل: .....

♦ تکمیل تمام موارد فوق الزامی است ♦

اشتراک ۶ ماهه (با پست عادی)	۵۰۰,۰۰۰ ریال	اشتراک یکساله (با پست عادی)	۱,۰۸۰,۰۰۰ ریال
اشتراک ۶ ماهه (با پست سفارشی)	۶۰۰,۰۰۰ ریال	اشتراک یکساله (با پست سفارشی)	۱,۲۰۰,۰۰۰ ریال

مبلغ اشتراک یکساله خارج از کشور با پست سفارشی ۳۶۰ دلار است.

لطفاً برای شروع یا تمدید اشتراک، رسید فیش واریزی را همراه با فرم تکمیل شده فوق به دفتر ماهنامه فاکس نمایید.

کارت بانک پاسارگاد به شماره کارت ۹۱۵۲-۹۰۷۲-۲۹۱-۵۰۲۲ و شماره حساب ۱-۱۲۰۸۴۲۳۴-۸۰۰۰-۲۰۶ به نام آقای محمود اصلانی  
 ایمیل: matashkhis@gmail.com      نمابر: ۸۹۷۷۶۷۶۹      تلفن: ۰۹۱۲۷۳۳۳۴۰۷