شبنم بهرامی- دانشجوی مقطع دکترای سلولی و مولکولی

مروری بر آزمایش QF-PCR

یک تست تشخیص تکمیلی و همسو با تست های غربالگری و کاریوتایپ می باشد. تشخیص اختلالات کروموزومی جنین در دوران بارداری با استفاده از پرزهای جنینی و آمنیوسنتز امکان پذیر است. در تشخیص ناهنجاری‌های کروموزومی پیش از تولد که با کشت سلولی و تعیین کاریوتایپ انجام می شود، حدود ١٤ تا ٢١ روز زمان لازم است. اما در بررسی با QF-PCR در حدود ٤-٥ روز کاری بعد از نمونه گیری پرزهای جنینی (CVS)یا مایع آمنیوتیک مشخص می شود و می توانید مطمئن شوید که آیا جنین مبتلا به ناهنجاری های عددی کروموزوم است یا خیر.

در کشور ما بیشتر خانم ها در اواخر سه ماهه سوم بارداری برای تشخیص ناهنجاری های جنین مراجعه می کنند (به گونه ای که بیشترین موارد از هفته ١٦ به بعد به آزمایشگاه ژنتیک معرفی شده اند). باتوجه به اینکه بعد از پایان هفته ١٨ بارداری، اجازه سقط قانونی داده نمی شود؛ بنابراین سرعت بالای آزمایش بسیار مهم است. ازسوی دیگر دو تا سه هفته انتظار برای آگاهی از نتیجه آزمایش برای مادران طاقت فرسا است. تعیین کاریوتایپ جنین حداقل به دو تا سه هفته زمان نیاز دارد، در حالی‌که نتیجه QF-PCR در مدت زمان کوتاهی آماده می شود.

روش QF-PCR یک تکنیک مولکولی است که در آن قطعات اختصاصی تکثیر یافته از DNA نمونه جنین، آنالیز می شوند. QF-PCR موارد شایع ناهنجاری شامل کروموزوم ٢١, ١٣, ١٨, X, Y را مورد بررسی قرار می‌دهد. دقت روش کاریوتایپ برای تشخیص اختلالات عددی کروموزومی ٩٩/٤ درصد و دقت روش QF-PCR حدود ٩٩/٣ درصداست.

آزمایش QF-PCR به چه افرادی توصیه می‌شود؟

بررسی کروموزومی نمونه جنینی برای خانم هایی که احتمال اختلال کروموزومی در آنها بیشتر است، توصیه می شود از جمله:

١. سن بالای ٣٥ سال در هنگام بارداری

٢. جواب آزمایش های بارداری (موسوم به تست سه گانه یا چهارگانه) مشکوک به وجود اختلال کروموزومی باشد.

٣. جواب سونوگرافی هنگام بارداری مشکوک به اختلال کروموزومی در جنین باشد.

٤. داشتن فرزندان مبتلا به اختلال کروموزومی (زنده یا فوت شده)

٥. درخواست آزمایش کروموزومی هنگام بارداری توسط پزشک خانم هایی که داوطلب انجام این نوع آزمایش هستند و برای بررسی بیماری دیگری نیز اقدام به دادن نمونه جنینی کرده اند. لزومی به گرفتن نمونه جنینی مجدد ندارند.

نحوه آزمایش QF-PCR

١. مشاوره ژنتیک و راهنمایی درباره روش QF-PCR و یا سیتوژنتیک معمولی با توجه به مشاوره ژنتیک و درخواست پز شک.

٢. تماس خانواده با آزمایشگاه برای تعیین وقت برای اخذ نمونه جنینی (پرزهای جفتی یا آمنیون)

یادآوری

چنانچه پزشک فقط درخواست QF-PCR کرده باشد و کشت کروموزومی لازم نباشد؛ نیاز به مقدار کم (درحدود ١٠ میلی لیتر) از مایع آمنیون است. (آمینوسینتز از هفته ١٤بارداری به بعد توصیه

می شود) تجربه ما نشان می‌دهد که مشکلی ایجاد نمی‌کند. حتی با آلودگی به خون مادر معمولا این روش می توان از هفته ۱۰ بارداری به بعد از پرزهای جنینی نمونه‌برداری انجام داده و وضعیت ژنتیکی جنین را در همان اوایل بارداری مشخص کرد.

۳. مراجعه به آزمایشگاه جهت اخذ نمونه جنینی.

٤. انجام آزمایش کروموزومی با روشQF-PCR (در حدود ٤-٥ روز کاری زمان لازم دارد. توجه داشته باشید در مواردی لازم است این آزمایش روی همان نمونه تکرار شود. بنابراین ممکن است جواب آزمایش در مدت ٥-٦ روز آماده شود).

باید توجه داشته باشیم که QF-PCR به‌صورت اختصاصی، کروموزوم‌های خاصی را مورد بررسی قرار می‌دهد؛ بنابراین ۲-۳ درصد احتمال وجود دارد که مثبت بودن تست‌های غربالگری و سونوگرافی به‌علت نقص در کروموزوم‌های دیگر باشد. در این مورد QF-PCR قادر به تشخیص نخواهد بود، از این رو بررسی کل کروموزوم‌های جنین به دنبال QF-PCR توصیه می شود.

اختلالات عددی کروموزومی

هر انسان سالم ۲۳جفت کروموزوم دارد. در هر جفت کروموزوم یکی از آن‌ها از مادر و دیگری از پدر به ارث می رسد. ناهنجاری‌های کروموزومی نتیجه تغییر درشمار یا ساختار کروموزوم‌ها است که از علل مهم ایجاد نقص‌های مادرزادی به شمار می رود. شایع ترین آنها اختلال در تعداد کروموزوم‌های ۲۱،۱۳،۱۸ و کروموزوم‌های جنسی X و Y است. تریزومی۲۱ که مونگولیسم نیز نامیده می شود، شایع ترین علت عقب ماندگی ذهنی در کودکان است. افراد مبتلا، یک کروموزوم ۲۱ اضافی دارند و قابل درمان نیست. تحقیقات نشان می دهد که سن بالای مادر در ایجاد این بیماری نقش دارد. در ٪۹۹ مواد تریزومی۲۱، پدر و مادر سالم بوده ولی در زمانی که سلول‌های جنسی پدر یا مادر تشکیل شده، سلول مورد نظر واجد یک کروموزوم۲۱ اضافه بوده است و چنانچه چنین سلولی در تشکیل جنین شرکت کند، جنین، مبتلا به تریزومی۲۱خواهد شد. در ٪۱ موارد تریزومی۲۱، بعد از تشکیل نطفه، ناهنجاری ژنتیکی اتفاق می افتد. بیماران مبتلا به سندرم داون می توانند طول عمر طبیعی داشته باشند.

مبتلایان به تریزومی کروموزوم۱۸(سندرم ادوارد) بیشتر در سه ماهگی پس از تولد از بین می روند، ولی بعضی از آن‌ها تا پنج سال هم زنده می مانند. نشانگان این تریزومی شامل مغز کوچک، عقب افتادگی ذهنی، کری، پایین بودن موضع گوش‌ها، گره شدن شست‌ها است. بیشتر بیماران دارای ناهنجاری های قلبی می باشند.

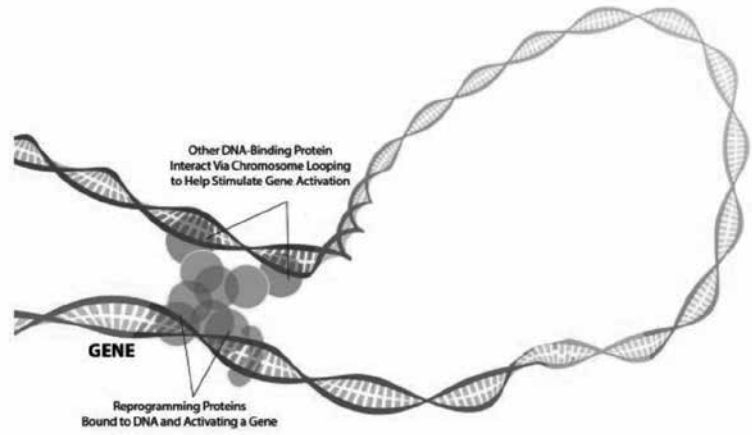
تریزومی۱۳(سندرم پاتو) ناشی از وجود یک کپی اضافه از کروموزوم ۱۳ است. این کپی اضافه سبب ناهنجاری‌های ذهنی، جسمی و نقایص قلبی برای نوزاد می‌شود. بروز این سندرم نسبت به سایر تریزومی ها (سندرم داون و سندرم ادوارد)، نادرتر است. مشکلات عمدهٔ فیزیکی تریزومی کروموزوم‌های جنسی معمولا ایجاد نمی کنند؛ سندرم‌های زیر شناخته شده ترین سندرم های همراه با اختلالات کروموزوم‌های جنسی هستند.

سندرم ترنر، یک بیماری ژنتیکی در زنان است. به جای دو کروموزوم جنسیX، دارای یک کروموزوم جنسی هستند، نشانگان بالینی بسیار متفاوت است؛ ولی می توان به کوتاهی قد در دوران بلوغ، فقدان یا تأخیر بروز صفات ثانویه جنسی، کاهش قدرت یادگیری، اختلال در قاعدگی و ناباروری به عنوان شاخص ترین نشانگان بالینی اشاره کرد.

سندرم کلاین فلتر یک بیماری ژنتیکی در مردان است که دارای یک کروموزوم جنسی(X) اضافه هستند(XXY). ممکن است فرد مبتلا به سندرم کلاین فلتر تا بلوغ شناسایی نشود. علامت اصلی این بیماری رشد ناکافی بیضه ها ودر نهایت ناباروری است. نشانگان دیگر شامل بلندی قد، بزرگ بودن پستان‌ها، فقدان یا تأخیردر بلوغ، عدم رویش موهای مردانه و کاهش یادگیری است.

سندرمXYY مردانی هستند که یک کروموزوم Y اضافه دارند. این مردان رفتارهای ضد اجتماعی بیشتری خواهند داشت. این مردان بلند قد (بیشتر از ۱۸۵ سانتی متر) و اغلب دارای اختلالات شخصیتی هستند.

سندرم XXX زنانی هستند که یک X اضافه دارند. این زنان نازا نبوده و فنوتیپ خاصی را از خود نشان نمی دهند، اما هر چه مقدار کروموزوم های X اضافی بیشتر شود احتمال عقب ماندگی ذهنی و ناهنجاری های مادرزادی مثل دستگاه تناسلی غیرطبیعی هم بیشتر می شود. جهت غربالگری اختلالات کروموزومی مربوط به کروموزوم های Y,X,۱۸,۱۳,۲۱، آزمایش هایی به صورت روتین به زنان باردار در هفته های مختلف بارداری توصیه می شود که در زیر به تفصیل توضیح داده شده است.



غربالگری سه ماهه اول بارداری (دابل مارکر)

غربالگری سه ماهه اول بارداری یک تست ترکیبی شامل آزمایش خون مادر و سونوگرافی است. غربالگری سندرم داون در سه ماهه اول بین هفته ۱۱ تا ۱٤ بارداری قابل انجام بوده و به وسیله آن ریسک تریزومی۲۱، تریزومی۱۳و۱۸ محاسبه می شود. این روش از آزمایش خون و انجام سونوگرافی تشکیل شده است. در آزمایش خون دو ماده A-PAPP و hCG Free در خون مادر اندازه گیری می شود. در بررسی سونوگرافی، ضخامت((Translucency Nuchal(NT) پشت گردن جنین اندازه گیری می شود. در غربالگری سه ماهه اول بارداری قدرت تشخیص سندرم داون در حدود ۸٤٪ است.

غربالگری سه ماهه دوم بارداری (کوآد مارکر)

این غربالگری که کوآدمارکر یا کوآدراپل نامیده می شود؛ برای غربالگری سندرم داون، تریزومی ۱۸ و نقایص لوله عصبی (ONTD)و سندرم SLO انجام می شود. در این تست چهارماده آلفافتوپروتئین، استریول آزاد، hCG و A Inhibin در خون مادر اندازه گیری می شود. بین هفته ۱۵ تا ۲۰ بارداری انجام می شود، اما این تست معمولا بهترین زمان انجام آن هفته های ۱۵ تا ۱۸بارداری است؛ با توجه به اینکه مجوز قانونی جهت سقط جنین هایی که دچار مشکل هستند، تا پایان هفته ۱۸ بارداری صادر می شود؛ بنابراین توصیه می شود این تست درهفته ۱۵ بارداری انجام گیرد تا درصورتی‌که جواب آزمایشات غیرطبیعی گزارش شد، زمان کافی برای انجام تست های تکمیلی(آمنیوسنتز وcvs) وجود داشته باشد. چون مدت زمان لازم برای تست های تکمیلی ۳هفته است.

غربالگری IPS

بر اساس تحقیقات انجام شده، IPS مؤثرترین روش غربالگری سندروم داون است. در این روش نتایج حاصله از مارکرهای سه ماهه اول و دوم بارداری در کنار هم مورد بررسی قرار می گیرد و میزان ریسک نهایی با قدرت تشخیص بالاتر گزارش می شود. از مزایای این روش می توان به پایین بودن مثبت کاذب این تست و قدرت تشخیص بالای آن (حدود ۹۲٪) اشاره کرد.

اگر نتیجه تست مثبت بود چه اتفاقی می افتد؟

چنانچه آزمون غربالگری فردی مثبت شود، تست هایی وجو دارد که نقص جنین را به طور یقین رد یا تأیید می نماید. این تست ها شامل CVS و آمنیوسنتز است. این تست های تشخیصی دارای ۰/۵ تا ۲ درصد ریسک سقط است. نمونه سلول های زنده گرفته شده از CVS یا آمنیوسنتز برای بررسی و مطالعه کروموزومی مورد استفاده قرار می گیرند.

نمونه برداری از پرزهای کوریونی جنینی (CVS)

در ایـن عمـل از پرزهای جفتـی نمونه برداری می شود که این پرزهـا در آینـده جفـت را می سـازند.

CVS در اوایـل بارداری و بیـن هفته هـای ۹ تـا ۱۱ انجـام می گیـرد. نمونـه گیـری از طریـق وارد نمـودن سـوزن بـه دیـواره شـکمی و با بی حسـی موضعـی انجـام می شـود، ایـن سـوزن از طریـق سـونوگرافی هدایـت می شـود. سـپس نمونـه پرزهـای کوریونـی جهـت کشـت و بررسـی کروموزومـی مـورد اسـتفاده قـرار می گیرند.

آمنیوسنتز

آمنیوسـنتز روشـی بـرای تشـخیص بیماری هـای جنیـن قبل از تولـد اسـت. کیسـه آمنیـون کیسـه ای اسـت شـبیه یـک بالـون کـه جنیـن را احاطه کـرده و داخـل این کیسـه از مایع آمنیـون پرشـده و جنیـن در آن شـناور اسـت. مایـع آمنیـون بـه عنـوان ضربه گیـر عمـل می کنـد و از چسـبیدن جنیـن به دیـواره رحـم جلوگیری کـرده و حـرکات جنیـن را امکانپذیر می کنـد. داخـل ایـن مایع سـلول های جنینی وجـود دارد. این سـلول ها حـاوی اطلاعـات ژنتیکـی مهـم جنینـی است. در ایـن روش کـه در حوالـی هفته

هـای ۱۴ الـی ۲۰ بـارداری انجـام می شـود، پـس از مشخص شـدن سـن جنیـن، ضربـات قلـب، محل جفت و میـزان حجم آمنیون با کمک سـونوگرافی، وپـس از بی حسـی موضعـی، محـل مناسـب بـرای انجـام نمونه گیـری انتخـاب می شـود. از ایـن روش نیزبرای تشـخیص ناهنجاری هـای کروموزومـی و بسـیاری از بیماری هـای ژنتیکی که شـایع ترین آنها سـندرم داون، تریزومـی ۱۸ و تریزومی۱۳ اسـت، اسـتفاده می شـود.

فرم اشتراک ماهنامه نشخبرزایشگاهی ۱۳۹۹

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 یکساله (با پست عادی)	۲،۶۴۰،۰۰۰ریال	اشتراک ۶ ماهه (با پست عادی)	۱،۳۲۰،۰۰۰ریال
اشتراک یکساله (با پست سفارشی)	۳،۰۰۰،۰۰۰ ریال	اشتراک ۶ ماهه (با پست سفارشی)	۱،۸۰۰،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 شماره زیر فاکس نمایید.

کارت بانک پاسارگاد به شماره کارت ۷۲۲۴-۸۲۸۷-۲۹۱۰-۵۰۲۲ و شماره حساب ۱-۱۲۰۸۴۲۳۴-۸۰۰۰-۲۰۶ به نام آقای محمود اصلانی

ایمیل: matashkhis@gmail.com تلفن: ۰۹۱۲۷۳۳۳۴۰۷-۶۶۹۱۰۶۱۶-۸۸۹۸۷۵۰۱ نمابر: ۸۹۷۷۶۷۶۹