

غربالگری ناهنجاری جنین



دکتر شهرام ترکمندی

دکتری تخصصی ژنتیک پزشکی

مسئول فنی آزمایشگاه ژنتیک ژنوم اراک

■ آزمایشات غربالگری جنین به منظور تعیین ریسک یا خطر ابتلا به سندرم داون (تریزومی ۲۱) سندرم ادوارد (تریزومی ۱۸) ، سندرم پاتو (تریزومی ۱۳) ، نقص لوله عصبی باز (NTD) ، سندرم SLOS و مسمومیت حاملگی (Per-eclampsia) انجام میشود که بطور کلی به ۴ گروه که به شرح زیر است تقسیم میشوند :

1. سه ماهه اول بارداری (Double Marker)

2. سه ماهه دوم بارداری (Quadruple Marker)

3. آزمایشات جامع و ترکیبی (Integrated, Sequential, Contingent Prenatal Screening)

4. روش های غربالگری جدید (Cell free DNA)

غربالگری سه ماهه اول

- در تست غربالگری سه ماهه اول بارداری (First Trimester Screening = FTS) دو نوع اندازه گیری به همراه سن مادر مورد استفاده قرار می گیرد تا ریسک سندرم داون، تریزومی 18 و تریزومی 13 محاسبه شود.
- در غربالگری سه ماهه اول خانم باردار از ابتدای هفته 11 تا انتهای هفته 13 برای انجام تست به آزمایشگاه ارجاع می شود (بهترین زمان انجام تست در فاصله W+0D 12 تا W+3D 13 است).
- از آنجا که این تست در سه ماهه نخست بارداری انجام می شود و همزمان مارکهای بیوشیمیایی و سونوگرافی را در نظر می گیرد، غربالگری توأم سه ماهه اول نامیده می شود.
- این نوع غربالگری مشکلات غربالگری های جداگانه بر اساس مارکهای بیوشیمیایی (PAPP-A و Free β hCG) و مارکر سونوگرافی (NT) را که در گذشته هر یک به تنهایی انجام می شدند، رفع می کند.

چرا زمان آغاز غربالگری سه ماهه اول هفته یازدهم بارداری است؟

۱) آغاز تفاوت معنی دار **مدین** جامعه **جنین‌های نرمال و جنین‌های مبتلا به سندرم داون** از هفته ۱۱ بوده و پیش از آن **همپوشانی** مدین‌های این دو جامعه بالاست.

۲) به طور کلی در تمام تست‌های غربالگری، **زمانی انجام تست توجیح پذیر است** که به دنبال آن یک **تست تشخیصی** نیز وجود داشته باشد تا بتوان با آن موارد **مثبت غربالگری** را مورد تأیید قرار داد.

۳) **تست تشخیصی موجود در این مرحله CVS است**، اما نمی‌توان زودتر از هفته ۱۱ حاملگی آن را انجام داد زیرا اولاً احتمال **سقط** جنین بیشتر است و ثانياً ارتباط معنی‌داری بین انجام این تست پیش از هفته ۱۱ و افزایش بروز یکسری **اختلالات جنینی**، از جمله اختلالات عضوی عرضی، میکروناثیا (یا کوچک بودن فکین) و کوچک بودن زبان مشاهده شده است.

۳) در سونوگرافی NT، گذشته از اندازه‌گیری این مارکر یکسری بررسی‌های دیگر هم از ارگان‌های جنین انجام می‌شود که این بررسی‌ها پیش از ۱۱ هفته‌گی جنین قابل اعتماد نیستند. از جمله این بررسی‌ها می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

– **بررسی اکزومفالوس (فتق نافی):** تقریباً در تمامی جنین‌ها بین هفته‌های ۸ تا ۱۰ حاملگی فتقی در ناحیه روده مشاهده می‌شود که با ایجاد یک توده هاپیراکوژنیک در قاعده ناف، تقریباً تشخیص فتق نافی را غیرممکن می‌سازد.

– **بررسی آکرانیا (فقدان جزئی یا کامل جمجمه) و یا آنسفالی (فقدان مغز):** برای بررسی این اختلالات باید فرآیند استخوانی شدن جمجمه کامل شده باشد. اما این فرآیند در هفته ۱۱ صورت می‌گیرد و بررسی‌های پیش از هفته ۱۱ در این مورد قابل اعتماد نیستند.

– **بررسی قلب:** بررسی چهار حفره قلب و شریان‌های بزرگ بعد از هفته ۱۰ حاملگی امکان‌پذیر است.

– **بررسی معده و مثانه:** این اعضاء ۵۰٪ موارد در هفته ۱۰، ۸۰٪ موارد در هفته ۱۱ و ۱۰۰٪ موارد در هفته ۱۲ رویت می‌شوند



چرا پایان غربالگری سه ماهه اول در 13W+6D است؟

- به سه دلیل:
- ۱- در صورتی که جنین دچار اختلالی باشد بیمار فرصت انتخاب روش‌های ختم حاملگی در سه ماهه اول را خواهد داشت.
- ۲- میزان بروز ادم پشت گردن در جنین‌های دارای کروموزوم غیر طبیعی طی هفته‌های ۱۸-۱۴ حاملگی کمتر از میزان بروز آن در هفته‌های زیر ۱۴ است.
- ۳- میزان موفقیت در اندازه‌گیری NT در زیر ۱۴ هفته‌گی حدود ۱۰۰-۹۸٪ است، در حالی که از هفته ۱۴ به بعد با قرار گرفتن جنین در وضعیت عمودی احتمال موفقیت در اندازه‌گیری NT و به دست آوردن تصویری مناسب به کمتر از ۹۰٪ می‌رسد.

Biochemical markers	Down syndrome	Edward syndrome	Patau syndrome	Neural tube defects
PAPP-A	↓	↓	↓	NA
B HCG	↑	↓	↓	Normal
AFP	↓	↓	↑	↑
uE3	↓/↑	↓	Normal	↓
Inhibin A	↑	↓	Normal	Normal

PAPP-A: Pregnancy-associated plasma protein A, AFP: Alpha-fetoprotein, uE3: Unconjugated estriol, β -HCG: Beta human chorionic gonadotropin, NA: Not available, ↑: Increases, ↓: decreases

۲- روش‌های غربالگری سه ماهه دوم:

الف- Triple marker شامل تعیین میزان Total β hCG و AFP و uE3 در سرم مادر در ۱۴W تا ۱۶W+۶d

ب- Quadruple test شامل Total β hCG و AFP و uE3 و DIA (Inhibin -A) در ۱۴W تا ۱۶W+۶d

Serum test marker	Condition		
	Down's syndrome (trisomy 21)	Edward's syndrome (trisomy 18)	Neural tube defect
AFP	Low	Low	High
HCG	High	Low	NA
Unconjugated oestriol	Low	Low	NA
Dimeric inhibin-A	High	Low	NA

AFP, α -fetoprotein; HCG, human choriogonadotropin.

روش‌های غربالگری تلفیقی یا مرحله ای:

انجام تست های سه ماهه اول و دوم به شکل دو مرحله ای با وجود افزایش میزان تشخیص نسبت به اینکه به طور مستقل انجام گیرد با افزایش موارد **مثبت کاذب** همراه خواهد بود، استراتژی های مطرح کنونی برای برنامه های دو مرحله ای که میزان خطر نهایی را پس از بررسی هر دو مرحله تعیین می نماید ، عبارتند از :

الف- **Integrated**: شامل انجام تست های **Free β hCG** و **NT + PAPP-A** در سه ماهه اول با در نظر گرفتن سن مادر و انجام **Quadruple test** در سه ماهه دوم و **محاسبه نهایی خطر براساس مجموعه موارد است.**

ب- **Serum Integrated**: انجام تست **PAPP-A** در سه ماهه اول و **Quadruple test** در سه ماهه دوم و محاسبه خطر نهایی براساس کلیه نتایج است. (طبق دستورالعمل این روش، در مناطقی که دسترسی به سونوگرافی **NT** وجود ندارد، روش انتخابی است).

ج- **Stepwise sequential**: در این روش تست های سه ماهه اول انجام می گیرد و خطر محاسبه می گردد . براساس خطر محاسبه شده افرادی که مشخصا در خطر بالا (خطر بالاتر از) **۱/۵۰** قرار می گیرند مشخص شده و برای آنها مشاوره و انجام تست **تشخیصی** پیشنهاد می شود. سایر موارد که ریسک کمتری دارند برای انجام **Quadruple test** در سه ماهه دوم ارجاع می شوند و اقدامات لازم بعدی پس از محاسبه خطر نهایی و تعیین وضعیت نسبت به **Cut off** سه ماهه دوم صورت می پذیرد

- **Contingent sequential** در این روش نیز به دنبال انجام تست های سه ماهه اول ریسک ابتلا محاسبه می گردد، اما این بار نتایج براساس **مرز بندی های مشخص** و با فاصله در سه گروه **خطر بالا ، خطر متوسط و خطر پایین** قرار می گیرند.
- **موارد با خطر بالا برای تست های تشخیصی ارجاع می شوند ، برای موارد با خطر پایین اقدام بیشتری انجام نمیشود و افراد با خطر متوسط برای انجام Quadruple test و یا تست های مولکولی و محاسبه خطر نهایی ارجاع می گردند**

۱- مادرانی که به دلیل نتیجه مثبت غربالگری ارجاع داده شده‌اند:

در مواردی که نتیجه غربالگری مثبت (خطر $\leq 1/250$) است:

- چنانچه خطر محاسبه شده $\leq 1/10$ یا نسبت اندازه NT به CRL بیش از ۹۹٪ (۹۹ پرسنتایل) باشد مادر می‌بایست برای انجام آمنیوسنتز به منظور آزمایش تشخیص ژنتیک ارجاع داده شود.

- چنانچه خطر محاسبه شده $1/11$ تا $1/250$ یا نسبت اندازه NT به CRL بیش از ۹۵٪ (۹۵ پرسنتایل) و کمتر از ۹۹٪ باشد مادر می‌بایست برای انجام NIPT ارجاع داده شده و چنانچه نتیجه انجام NIPT مثبت باشد برای انجام آزمایش تشخیص ژنتیک ارجاع داده شود.

توجه : در صورتی که PAPP-A کمتر از 0.26 MoM باشد NIPT انجام نشده و مادر می‌بایست برای نمونه‌گیری برای انجام تست تشخیص ژنتیک ارجاع داده شود.

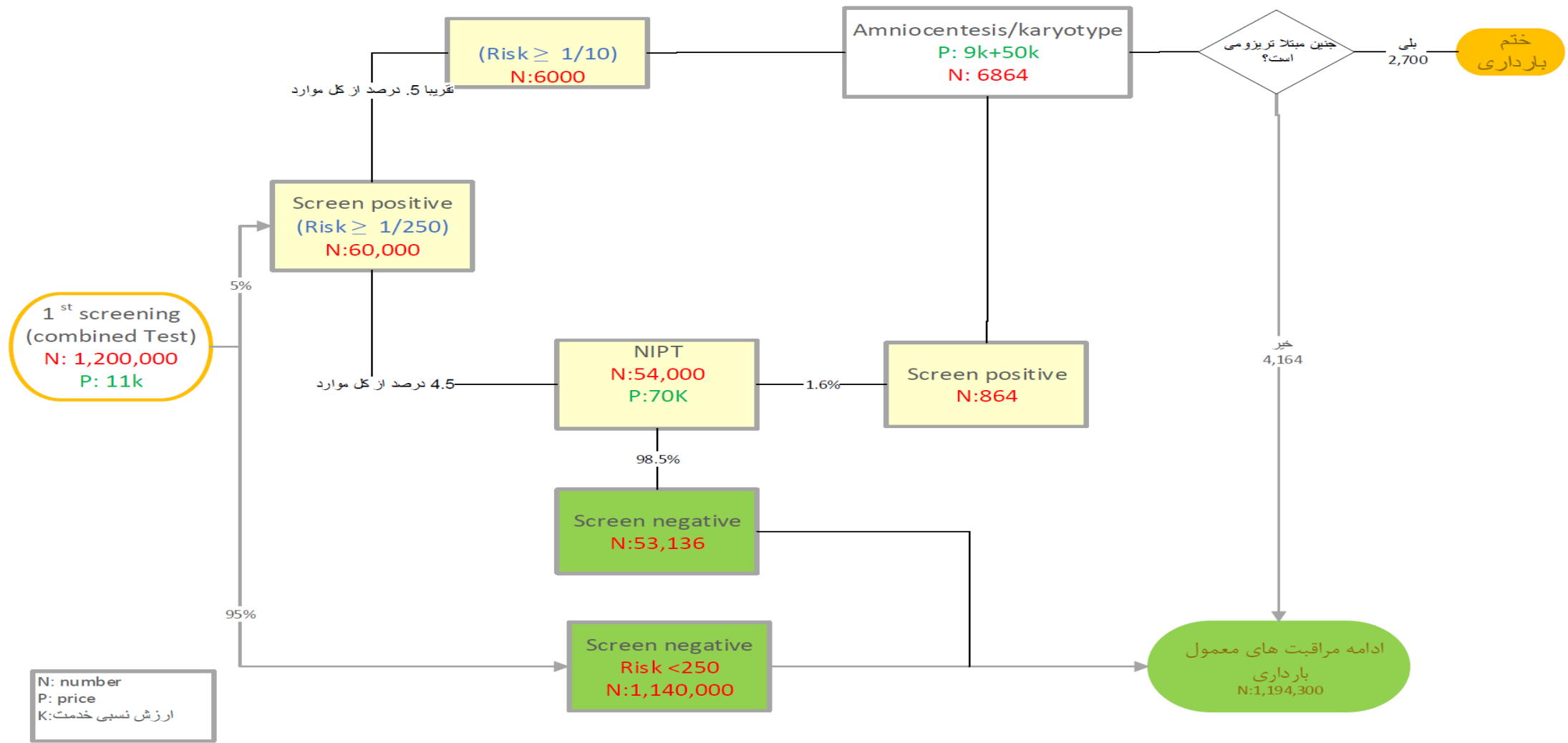
۲- مادرانی که متقاضی انجام غربالگری پس از ۱۷ هفتگی هستند:

در این مادران، غربالگری و محاسبه خطر با Quad Marker شامل AFP، hCG، uE3 و Inhibin –A انجام می‌گیرد. مادر باردار می‌بایست در خصوص محدودیت زمان توسط متخصص زنان توجیه شود. (با در نظر گرفتن زمان لازم در بهترین شرایط که شامل یک تا دو روز برای انجام غربالگری، در صورت مثبت بودن نتایج غربالگری یک تا دو روز برای انجام روش‌های سریع تشخیص ژنتیک و در صورت ابتلاء جنین، یک تا دو روز جهت انجام مراحل قانونی ختم بارداری حداکثر تا ۱۹ هفته -۱۸ هفته و ۶ روز -)

در صورتی که زمان کافی به شرح مذکور وجود دارد مادر برای غربالگری ارجاع داده شده و در مواردی که نتیجه غربالگری منفی (خطر $> 1/250$) است ادامه مراقبت‌های معمول بارداری صورت می‌گیرد. در مواردی که نتیجه غربالگری مثبت است (خطر $\leq 1/250$) مادر می‌بایست جهت درخواست انجام تشخیص ژنتیک در اولین فرصت ارجاع داده شود.



Contingent NIPT
روش منتخب در برنامه ساماندهی



N: number
P: price
K: ارزش نسبی خدمت



عنوان سند:

استانداردهای آزمایش غیر تهاجمی دوران بارداری از نظر ناهنجاری های کروموزومی (NIPT) با استفاده از DNA آزاد جنینی در خون مادر (Cell Free Fetal DNA) در آزمایشگاه های تشخیص ژنتیک

شماره سند:

HD-GO-00-MN-SD-005-00



۵-۱) راهنماها و استانداردهای تکنیک NIPT (با استفاده از Cell free Fetal DNA)

۵-۱-۱) مرحله درخواست آزمایش (اندیکاسیون در مورد بیماری، کاربرد در مورد تکنیک)

۵-۱-۱-۱) پزشک درخواست کننده تست NIPT (با استفاده از Cell free Fetal DNA) بایستی متخصص

زنان-زایمان، پریناتولوژیست، مشاور ژنتیک و یا متخصص ژنتیک پزشکی باشد.

۵-۱-۱-۲) مواردی که درخواست تست NIPT (با استفاده از Cell free Fetal DNA) اندیکاسیون دارد:

۱) مشاهده حداقل یک یافته مثبت سونوگرافیک (Soft Marker) به نفع آنومالی های شایع مثل

تریزومی های ۱۳ (سندرم پاتو)، ۱۸ (سندرم ادوارد) و ۲۱ (سندرم داون). در چنین مواردی به منظور

کاهش نگرانی مادر باردار، کاهش سقط غیرقانونی و یا سقط ناشی از آمنیوسنتز غیرضروری، تست NIPT

قابل انجام است.

تبصره: Soft Marker ها شامل موارد زیر می باشند که عمدتاً بعد از ۱۸ هفتگی قابل تشخیص می باشند.

- ونتریکولومگالی خفیف (۹ تا ۱۱ میلی متر)
- Short Long Bones (FL,HL<5th Percentile)
- بینی هیپوپلاستیک (این مورد از بعد از ۱۵ هفتگی قابل تشخیص است).
- NF>6 mm
- Aberrant right subclavian artery
- Echogenic bowel بعد از هفته ۱۸
- هیدرونفروز (Pyelectasia>5 mm) بین هفته ۱۸ تا ۲۰

۲) سابقه تولد نوزاد مبتلا به تریزومی ۱۳ (سندرم پاتو)، ۱۸ (سندرم ادوارد) و ۲۱ (سندرم داون) (بدون ترانسلوکاسیون).

۳) نتایج مثبت در آزمایش های غربالگری سه ماهه اول و دوم، مشروط بر این که به دلایل موجه پزشکی انجام آمنیوسنتز پس از مشاوره توصیه نشود مانند مسائل زیر:

- مادر با خونریزی (تهدید به سقط)
- مثبت بودن عفونت های ویروسی HIV، HBS، HCV در مادر
- مادر با RH منفی
- حاملگی با استفاده از روش های کمک باروری

۵-۱-۱-۳) مواردی که درخواست تست NIPT (با استفاده از Cell free Fetal DNA) اندیکاسیون ندارد:

(۱) دوقلویی های دی کوریونی.

(۲) چندقلویی.

(۳) در مادران با چاقی شدید با $BMI > 30$ و یا با وزن بالای ۱۰۰ کیلوگرم.

(۴) غربالگری آنومالی های کروموزومی غیر از ۱۳، ۱۸ و ۲۱.

(۵) در صورتی که نتیجه تست به خاطر Low Fetal Fraction منفی شده است نمونه گیری

مجدد و ارسال نمونه مجدد توصیه نمی شود.

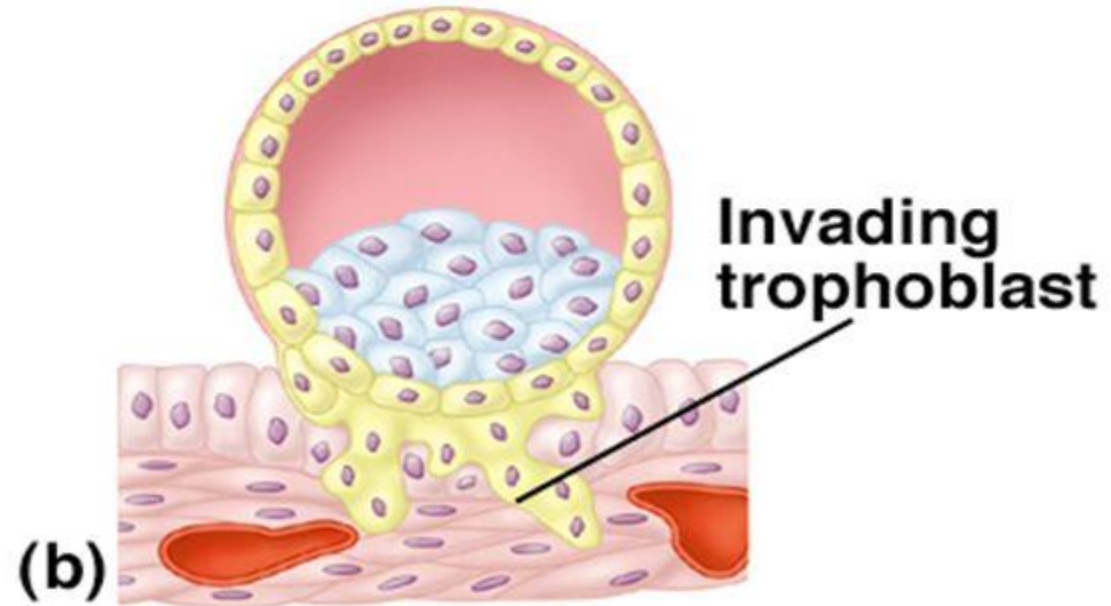
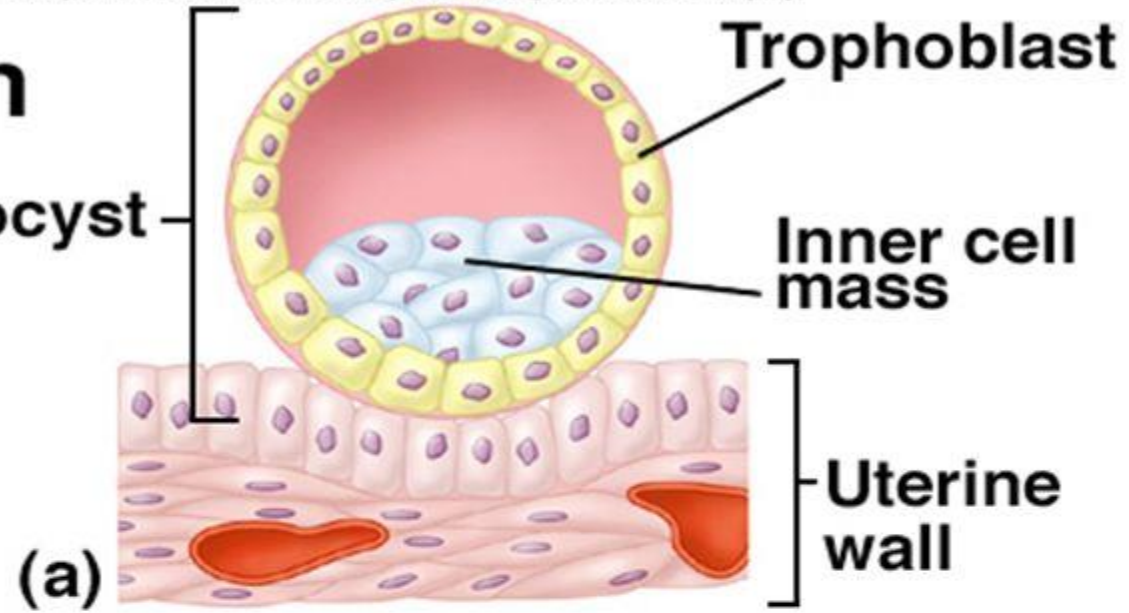
در انجام تست NIPT (با استفاده از Cell free Fetal DNA) توجه به موارد زیر ضروری است:

۱. مادر باردار می تواند تست NIPT (با استفاده از Cell free Fetal DNA) را به جای تست های غربالگری معمول انتخاب کند.
۲. تست NIPT (با استفاده از Cell free Fetal DNA) به هیچ عنوان جایگزین تست های تشخیصی برای اثبات بیماری نمی باشد.
۳. مشاوره قبل و بعد از تست الزامی است.
۴. وجود یک نتیجه منفی تست NIPT (با استفاده از Cell free Fetal DNA) به معنی عدم ابتلای قطعی جنین نمی باشد.
۵. نتیجه مثبت تست NIPT (با استفاده از Cell free Fetal DNA) باید با آمنیوسنتز تایید شود.

مادر باردار مراجعه کننده باید قبل از انجام تست NIPT (با استفاده از Cell free Fetal DNA)، حداقل یک بار سونوگرافی انجام داده باشد که در آن سن بارداری وضعیت تک قلویی و یا چند قلویی جنین ذکر شده باشد و یک کپی از آن را در هنگام پذیرش به آزمایشگاه تحویل داده باشد.

در مواردی که بارداری در ابتدا دوقلویی بوده اما یک قل از بین رفته است، در زمان نمونه گیری جهت تست NIPT (با استفاده از Cell free Fetal DNA)، باید حداقل ۸ هفته از زمان از بین رفتن آن قل گذشته باشد.

Implantation



دلائل مثبت کاذب NIPT

- Confined Placental Mosaicism
- Vanishing Twins
- Maternal malignancy

دلایل منفی کاذب NIPT

- اگر تست قبل از هفته دهم انجام شود
- وزن بالای مادر
- جنین تریپلوئید
- True fetal mosaicism