

Genetic Testing during Pregnancy

Dr. Majid Kheirollahi

Associate professor of Medical Genetics

ISFAHAN UNIVERSITY OF MEDICAL SCIENCES

Gene Azma Medical Genetics Laboratory

Services

- ❑ Genetics Counseling
- ❑ Diagnostic molecular methods
- ❑ Cytogenetic molecular methods

Techniques

- ▶ Karyotyping
- ▶ PCR/Sanger Sequencing
- ▶ Deletion/Duplication Analysis
 - MLPA
 - CGH-array
- ▶ Microsatellite instability
- ▶ Next-Gen Sequencing

Karyotyping

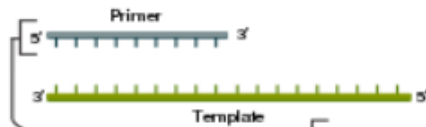
- ▶ Investigating the number and structure of chromosomes
- ▶ In high-grade tumors, there are changes in the number of structures and structures.
- ▶ In disorders such as Bloom syndrome, Fanconi anemia



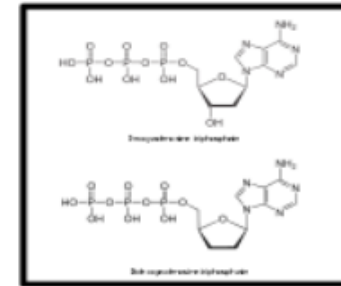
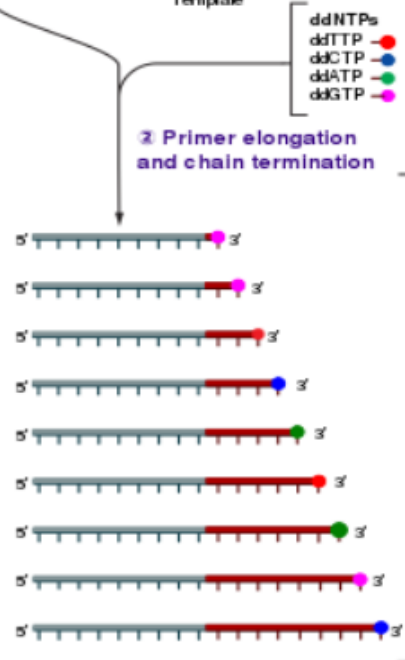
PCR and Sanger sequencing

1 Reaction mixture

- ▶ Primer and DNA template
- ▶ DNA polymerase
- ▶ ddNTPs with flouochromes
- ▶ dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, and dTTP)



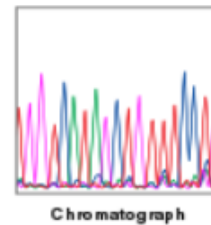
2 Primer elongation and chain termination



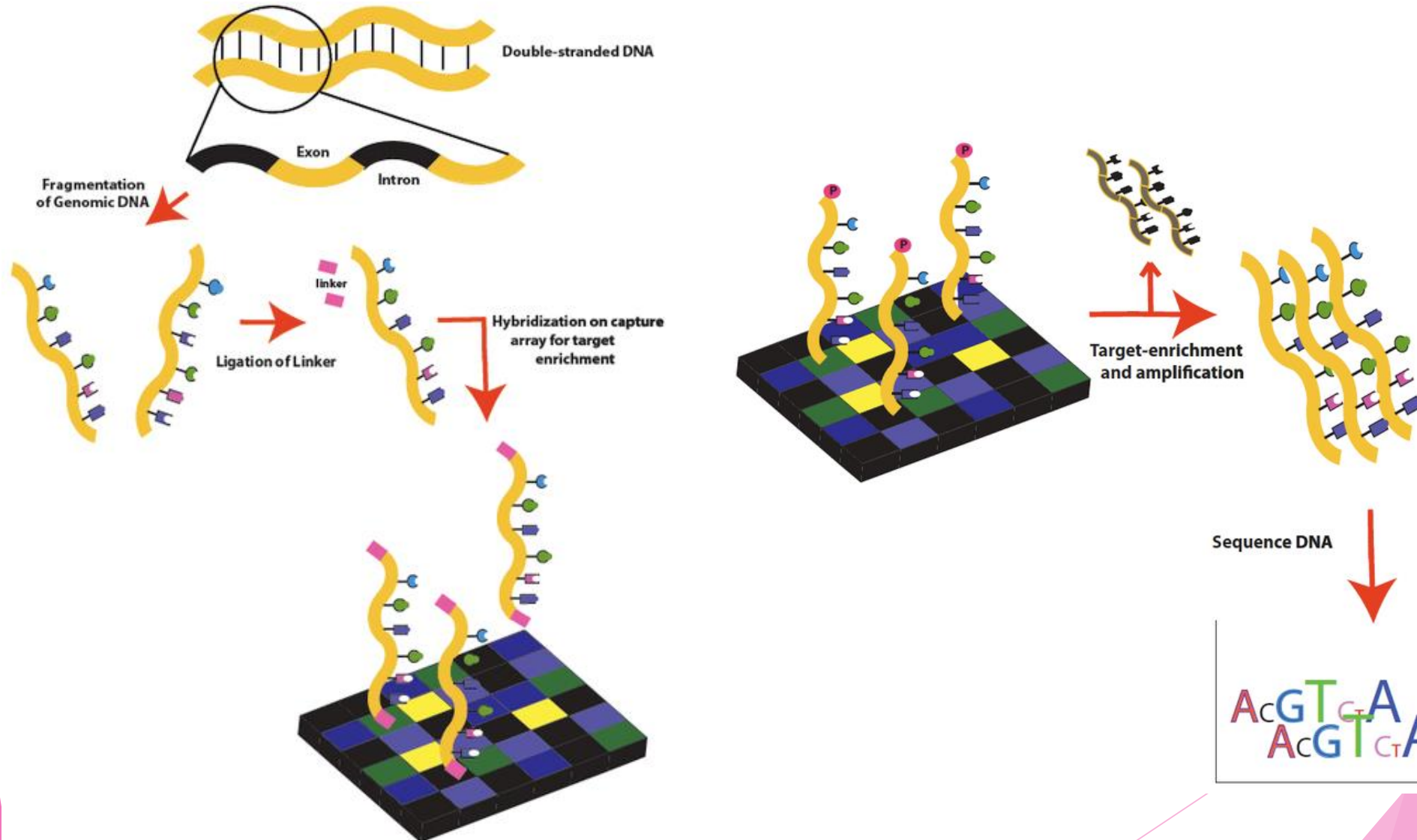
3 Capillary gel electrophoresis separation of DNA fragments



4 Laser detection of flouochromes and computational sequence analysis



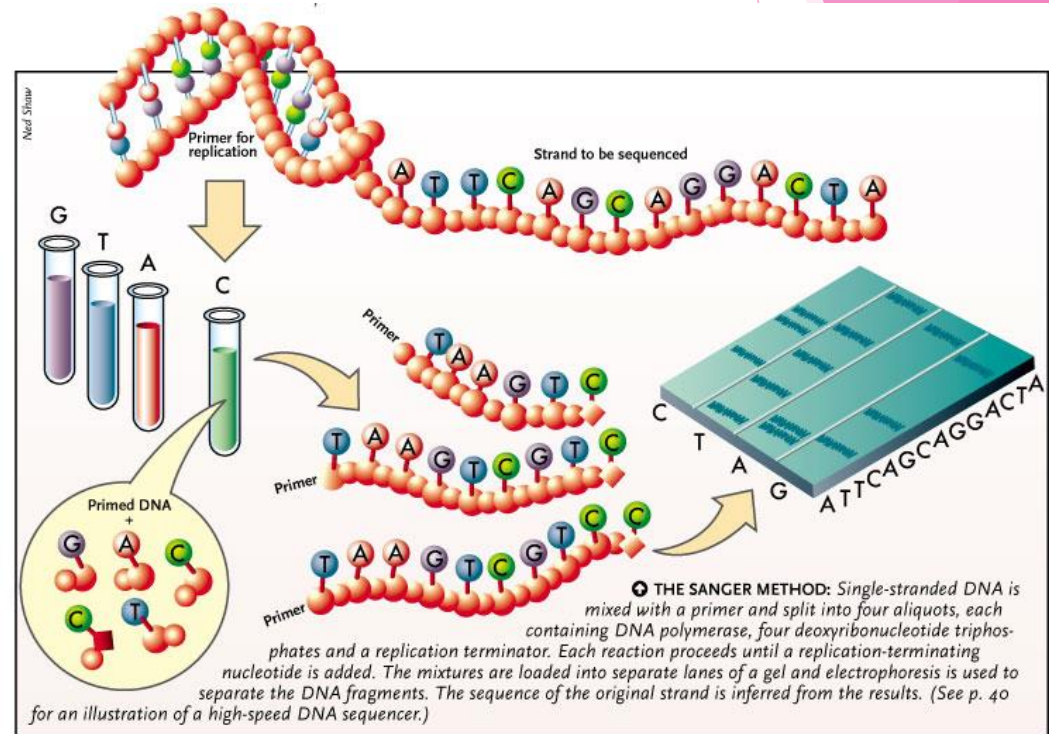
Whole exome sequencing (NGS)



آزمایش های NGS و پانل ها

موارد زیر مثال هایی از اختلالاتی هستند که به روش NGS و با بررسی تعدادی ژن یا کل ژنوم مورد بررسی قرار می گیرند.

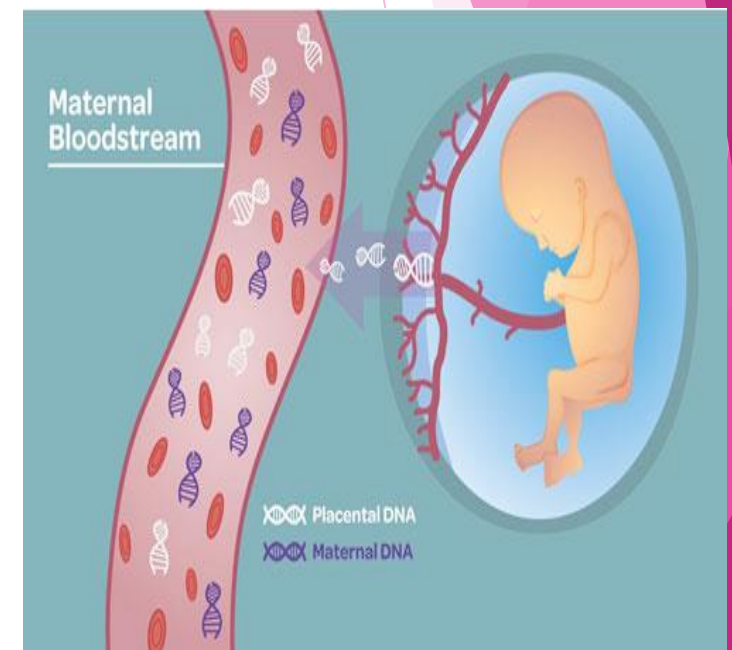
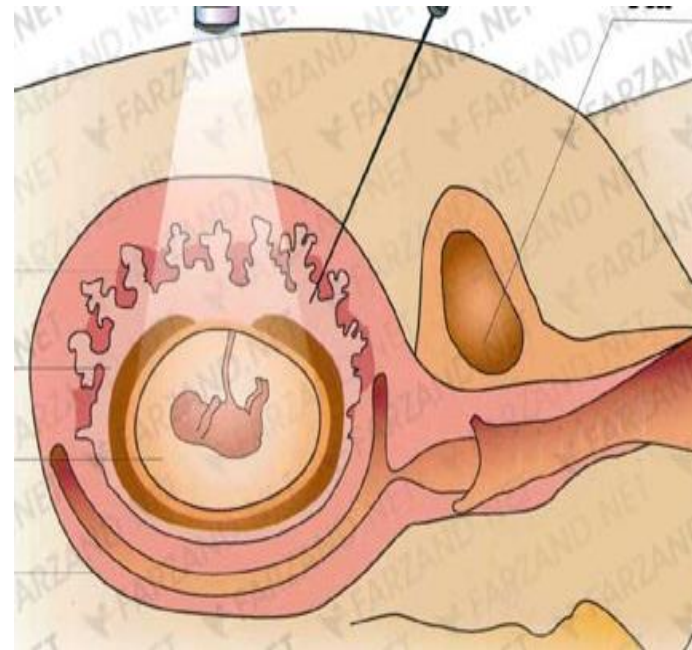
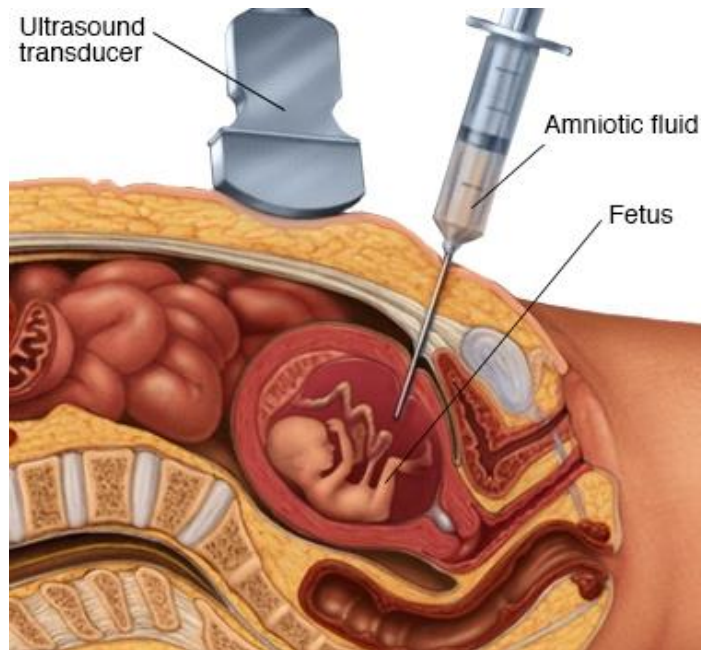
- سرطانها
- ناتوانی ذهنی و تاخیر تکاملی
- ناشنوایی های ارثی
- نابینایی های ارثی
- بیماری های متابولیک ارثی
- بیماری های سیستم اسکلتی و استخوانی
- معلولیت های حرکتی
- بیماری های سیستم اعصاب مرکزی
- بیماری های ژنتیک پوست (ژنودرماتوزها)
- بیماری های ژنتیک قلب (آریتمی ها و ...)



Diagnosis

- ▶ Prenatal testing and prenatal expectations
 - ▶ Prenatal testing
 - ▶ in vitro fertilisation, via preimplantation genetic diagnosis
 - ▶ Chorionic villus sampling
 - ▶ amniocentesis

آمنیوسنتز، CVS و NIPT



اهداف تشخیص پیش از تولد

- ▶ هدف صرفاً شناسایی اختلالات در دوره جنینی و اجازه ختم بارداری در صورت یافتن نقصی در جنین نیست بلکه اهداف شامل:
 - ▶ ۱- فراهم کردن محدوده ای از انتخاب آگاهانه برای زوج های در معرض خطر در بدنیا آوردن کودکی با اختلال
 - ▶ ۲- اطمینان دادن و کاستن از اضطراب بخصوص در گروههای پرخطر
 - ▶ ۳- اجازه به زوجین جهت اداره مناسب تولد در شرف وقوع مبتلا به نوعی اختلال
 - ▶ ۴- مقدور ساختن درمان جنین های مبتلا پیش از تولد. رفع انسداد مثانه از طریق شنت گذاری در رحم که جلوی آسیب برگشت ناپذیر به ریه ها را می گیرد.

کاربردهای تشخیص پیش از تولد

- ▶ سن بالای مادر
- ▶ فرزند قبلی دچار نوعی اختلال کروموزومی جدید
- ▶ وجود اختلال ساختمانی کروموزومی در یکی از والدین
- ▶ سابقه خانوادگی یک اختلال ژنتیکی که با تجزیه و تحلیل بیوشیمیایی یا DNA ممکن است تشخیص داده یا رد شود
- ▶ سابقه خانوادگی نوعی اختلال وابسته به جنس که هیچ آزمایش تشخیصی پیش از تولد برای آن وجود ندارد
- ▶ خطر نقایص لوله عصبی
- ▶ غربالگری سرم مادر (MSS) و سونوگرافی

شیوه‌های تشخیص پیش از تولد

▶ آزمایش های تهاجمی

▶ آمنیوسنتز

▶ نمونه برداری از پرزهای کوریونی

▶ کوردوسنتز

▶ تشخیص ژنتیکی پیش از لانه گزینی

▶ آزمایش های غیر تهاجمی

▶ آلفا فیتو پروتئین سرم مادر

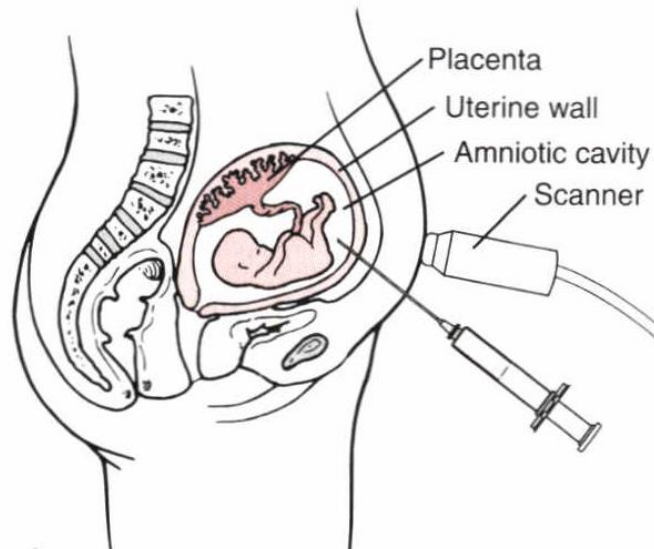
▶ غربالگری سرم مادر

▶ سونوگرافی

▶ جدا کردن سلولهای جنینی از گردش خون مادر

آمیوسنتز

- ▶ آمیوسنتز به خارج کردن نمونه‌ای از مایع آمنیوتیک از راه شکم، توسط سرنگ اطلاق می‌شود.
- ▶ مایع آمنیوتیک، حاوی سلولهایی از منشا جنینی است که می‌توان آن را برای آزمایشهای تشخیصی کشت داد.
- ▶ پیش از آمیوسنتز، از سونوگرافی برای تایید قابلیت حیات جنین، سن بارداری، تعداد جنینها و طبیعی بودن ساختمانها و.. استفاده می‌شود.



- آمیوسنتز به صورت سرپایی و عموماً در هفته‌های ۱۶ - ۱۵ پس از اولین روز آخرین دوره قاعدگی، انجام می‌شود. علاوه بر تجزیه و تحلیل کروموزومهای جنین، می‌توان غلظت AFP در مایع آمنیوتیک را جهت شناسایی بعضی بیماریها ارزیابی کرد.

آلفا فیتو پروتئین

▶ **AFP** نوعی گلیکوپروتئین جنینی است که عمدتاً در کبد تولید می‌شود و به داخل جریان خون جنین منتقل می‌شود و توسط کلیه‌ها از راه ادرار به مایع آمنیوتیک دفع می‌گردد.

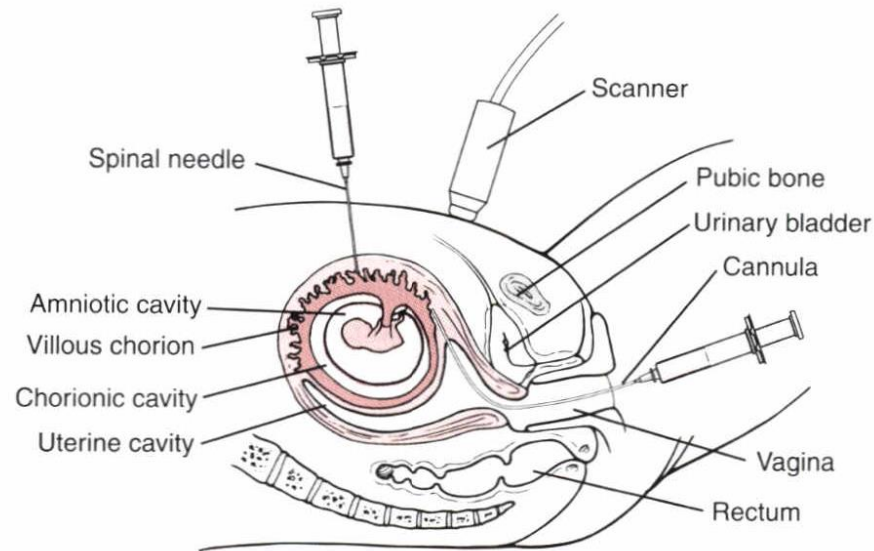
▶ **AFP** از طریق جفت، پرده‌های آمنیوتیک و گردش خون مادری - جنین، وارد جریان خون مادر می‌شود. بنابراین می‌توان آن را در مایع آمنیوتیک یا سرم مادر سنجید. هر دو سنجش در تشخیص پیش از تولد بسیار مفید هستند.

▶ اگر غلظت این گلیکوپروتئین زیاد باشد، نشان دهنده بعضی اختلالات در جنین می‌باشد. در آزمایش آمینوستنز، احتمال پاره شدن پرده آمنیوتیک و سقط جنین وجود دارد.

CVS

CVS شامل نمونه برداری بافتی از ناحیه پرزدار کوریون از طریق گردن رحم یا شکم و عموماً بین هفته های ۱۰ تا ۱۲ بارداری است. پرزها از تروفوبلاست که بخش خارج رویانی بلاستوسیت می باشد، مشتق می شوند.

مزیت اصلی CVS در مقایسه با آمنیوسنتز این است که در CVS، نتایج در مراحل اولیه بارداری آماده می شوند. اما AFP را نمی توان در این مرحله سنجید.



- اشکال اساسی آن در موزائیسیم است که می تواند موزائیسیم حقیقی یا کاذب باشد.

- خطر سقط در آن تقریباً ۱ درصد است.

کوردوستتز

▶ کوردوستتز ، روشی است که برای بدست آوردن مستقیم نمونه خون جنینی از بند ناف با هدایت سونوگرافی بکار می‌رود. نمونه خون جنینی صرفاً به چند روز کشت نیاز دارد تا سلولهای مناسب برای تجزیه و تحلیل کروموزومی یا مطالعات خونی فراهم شوند.

▶ کوردوستتز برای پیگیری سونوگرافی که وجود اختلال جنینی را نشان داده است. در مواردی بکار می‌رود کشت سلولهای مایع آمینوتیک ناموفق بوده یا وقتی تشخیص DNA برای اختلالی که با آزمایشهای بیوشیمیایی سلولهای پلاسما یا خون جنین قابل شناسایی است، امکان پذیر نیست.

▶ کوردوستتز در هفته‌های ۲۱ - ۱۹ بارداری انجام می‌شود و میزان سقط جنین در این روش ۳ - ۲ درصد است.

Examples of Metabolic Disorders Diagnosed by Enzyme Assay or DNA Analysis in Chorionic Villi or Cultured Amniotic Fluid Cells

Amino acid and organic acid disorders

Phenylketonuria
Homocystinuria
Maple syrup urine disease
Methylmalonic acidemia
Propionic acidemia

Carbohydrate disorders

Galactosemia
Glycogen storage diseases, types II, III, IV

Cholesterol and steroid metabolism disorders

Smith-Lemli-Opitz syndrome
X-linked ichthyosis

Lysosomal disorders

Hurler syndrome
Krabbe disease
Niemann-Pick disease
Tay-Sachs disease

Metal metabolism disorders

Menkes syndrome

Peroxisomal disorders

Chondrodysplasia punctata
Zellweger syndrome
X-linked adrenoleukodystrophy

Purine and pyrimidine disorders

Adenosine deaminase deficiency

اختلالات متابولیکی قابل
تشخیص با آمنیوسنتز یا
CVS

تشخیص ژنتیکی پیش از لانه گزینی

- ▶ کاربرد فنون مولکولی یا سیتوژنتیکی در طی بارورسازی در خارج بدن (IVF) برای انتخاب رویان هایی فاقد بیماریهای ژنتیکی خاص جهت انتقال به داخل رحم است.
- ▶ می توان آن را بر روی جسم قطبی یا با نمونه برداری از یک سلول منفرد در بلاستومر ۸-۶ سلولی پس از IVF انجام داد.
- ▶ تجزیه و تحلیل مولکولی با استفاده از روش تعیین ترادف یا همان سکانس و واکنش زنجیره ای پلی مرز یا PCR جهت بررسی اختلالات تک ژنی می تواند صورت گیرد. همچنین با استفاده از FISH می توان به بررسی اختلالات کروموزومی پرداخت.
- ▶ پس از این که بررسی ها نشان دهنده وضعیت سلامت جنین در وضعیت بلاستومر می باشد، می توان آن را به رحم مادر انتقال داد.

مقدمه ای بر روشهای غربالگری

- ▶ برای هر خانم باردار احتمال داشتن فرزندی با نقایص مادرزادی وجود دارد.
- ▶ اگرچه این احتمال خیلی زیاد نیست اما با انجام روشهای آزمایشگاهی که خطری برای جنین ندارند و به تست های غربالگری معروف هستند می توان تا حد زیادی این موارد را شناسایی کرد و اقداماتی نظیر سقط درمانی انجام داد.
- ▶ عمده نقایصی که در غربالگری جنین شناسایی می شوند:
- ▶ اختلالات کروموزومی ۲۱، ۱۸ و ۱۳
- ▶ اختلالات نقایص لوله عصبی و ناهنجاریهای اصلی در اندامهای جنین

انواع تست های غربالگری

▶ انواع آزمایشهای غربالگری

۱- تست غربالگری سه ماهه اول

۲- تست غربالگری سه ماهه دوم

۳- تست ترکیبی غربالگری سه ماهه اول و دوم بارداری

۴- تست های مبتنی بر DNA آزاد جنینی در خون مادر

▶ احتمال خطا وجود دارد و دقت تشخیص در بهترین حالات بین ۸۰ تا ۹۰ درصد است.

▶ تنها راه قطعی تعیین مبتلا بودن یا نبودن جنین، انجام آزمایش بر اساس CVS و یا آمنیوسنتز است.

غربالگری سه ماهه اول

- ▶ از ابتدای هفته ۱۱ تا انتهای هفته ۱۳
- ▶ اندازه گیری PAPP-A و Free BHCg
- ▶ اندازه گیری شاخص سونوگرافی بنام شفافیت پوست پشت گردن (NT)
- ▶ قدرت تشخیص معادل ۸۵ درصد
- ▶ مجموع نتایج سونوگرافی، آزمایش خون مادر و سن مادر با یکدیگر در یک نرم افزار مخصوص وارد می شود و ریسک خطر محاسبه می شود.

نتایج غربالگری سه ماهه اول

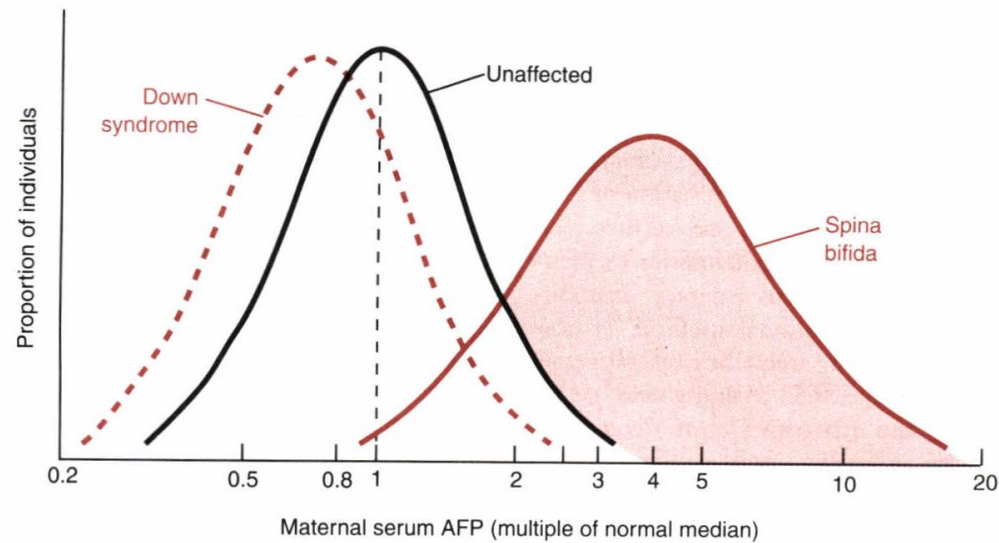
- ▶ بر اساس نتایج غربالگری ریسک خطر در خانم های باردار به سه دسته خطر پایین، خطر متوسط و بالا دسته بندی می شود.
- ▶ خانم هایی که ریسک خطر پایین دارن نیاز به انجام آزمایش های بعدی ندارند
- ▶ خانم هایی که ریسک خطر متوسط دارند ارجاع برای غربالگری سه ماهه دوم
- ▶ خانم هایی که ریسک خطر بالا دارند ارجاع برای انجام آزمایش ها **CVS** و یا آمنیوسنتز

غربالگری سه ماهه دوم

- ▶ از ابتدای هفته ۱۵ تا انتهای هفته ۲۱ بارداری
- ▶ بهتر است بین هفته های ۱۵ تا ۱۷ انجام شود.
- ▶ اندازه گیری چهار مارکر خونی **In A** ، **uE3** ، **hCG** و **AFP**
- ▶ قدرت تشخیص ۸۰ درصد موارد سندرم داون
- ▶ در صورتی که ریسک بالا برای جنین گزارش شود انجام آمنیوسنتز توصیه می شود.
- ▶ در صورتی که احتمال نقایص قلبی وجود داشته باشد انجام اکوکاردیوگرافی نیز توصیه می شود.

غربالگری سرم مادر با تست های سه گانه (Triple Tests)

	AFP	uE3	HCG
Increased risk of Down syndrome	↓	↓	↕
Trisomy 18	↓	↓	↕
NTD	↑	not applicable	not applicable



سونوگرافی

سونوگرافی اهمیت روز افزونی در تشخیص پیش از تولد برای ارزیابی جنین و شناسایی ناهنجاریهای ظاهری دارد.

این روش تعیین دقیق سن جنین را مقدور می‌سازد، بارداریهای چند قلو را شناسایی می‌کند و قابلیت حیات جنین را تأیید می‌نماید. حتی می‌توان از آن در سه ماهه دوم، برای شناسایی جنس جنین با دقت زیاد استفاده کرد.

سونوگرافی از راه شکم که شیوه مرسوم می‌باشد، امروزه با فراوانی زیادی با سونوگرافی از راه واژن تکمیل می‌شود تا قابلیت حیات جنین و سن بارداری ارزیابی گردد.

ارزیابیهای پیگیری کننده دراز مدت، نتوانسته‌اند مدرکی دال بر مضر بودن سونوگرافی برای جنین یا مادر ارائه دهند.

سونوگرافی پیش از تولد برای اختلالات تک ژنی

وقتی جنین در معرض خطر نوعی اختلال تک ژنی است که ضایعه ژنتیکی آن ناشناخته می باشد، سونوگرافی جزئی ممکن است گاهی تنها شیوه مقدور تشخیص پیش از تولد باشد.

سونوگرافی در مواردی مفید است که بیماری باعث یک نقص جسمی گردد. مواردی مانند کلیه پلی کیستیک، لب شکری، پاچنبری، نقایص مادرزادی قلب، نقایص لوله عصبی، دستگاه تناسلی غیرطبیعی و پلی داکتیلی کاملاً قابل بررسی می باشند.

تعیین جنسیت

سونوگرافی را می توان از هفته ۱۵ بارداری به بعد برای تعیین جنسیت جنین بکار برد. این تعیین جنسیت ممکن است سرآغاز یا کمک مهمی در تشخیص پیش از تولد اختلالات وابسته به جنس (مانند هموفیلی) برای آن گروه از خانمهایی که در معرض افزایش خطر تشخیص داده شده اند، باشد.

اثر تشخیص پیش از تولد بر اداره بیماریهای ژنتیکی

از آنجا که درمان موثر پیش از تولد برای اکثر اختلالات وجود ندارد، والدین ممکن است تصمیم به ختم بارداری بگیرند.

در بین تمامی سقط های انتخابی، آنهایی که به علت تشخیص پیش از تولد می باشند درصد کمی را تشکیل می دهند.

در سطح جمعیت ، تشخیص پیش از تولد همراه با سقط انتخابی ، به کاهش چشمگیر بروز تعدادی از اختلالات جدی مانند بیماری تی ساکس و بتا تالاسمی در گروههای جمعیتی مشخص منجر شده است.

به هر حال تشخیص پیش از تولد نمی تواند فراوانی ژنی این اختلالات را کاهش دهد و حتی در بعضی از مواقع فراوانی برخی از ژنهای مضر را در جمعیت افزایش داده است و

مسائل اخلاقی در تشخیص پیش از تولد

▶ در اکثریت موارد ، یافته‌ها در تشخیص پیش از تولد، طبیعی هستند و به والدین اطمینان داده می‌شود که کودک ، مبتلا به بیماری مورد نظر نخواهد بود. متأسفانه در درصد کمی از موارد مشخص می‌شود که جنین نقص جدی دارد. از آنجا که درمان پیش از تولد برای اکثر اختلالات وجود ندارد، والدین ممکن است تصمیم به ختم بارداری بگیرند.

▶ مزیت اصلی تشخیص پیش از تولد برای جمعیت نیست بلکه برای خانواده بیمار است. والدین در معرض خطر داشتن فرزندی مبتلا به اختلالی جدی، با آگاهی از این موضوع که می‌توانند در اوایل بارداری از ابتلا یا عدم ابتلای جنین خود مطلع شوند، قادرند بارداری‌هایی داشته باشند که در غیر این صورت زیر بار آن نمی‌رفتند.

▶ والدین و کارمندان بهداشتی باید به موضوعات اخلاقی دخیل در تشخیص‌های پیش از تولد توجه داشته باشند.



آزمایشگاه ژنتیک پزشکی

ژن آزما

GENE AZMA MEDICAL LAB

مشاوره ژنتیک

مشاوره پیش از ازدواج و پیش از بارداری و حین بارداری
مشاوره موارد مربوط به سقط ، نا باروری و مرده زایی
انجام همه آزمایشات تخصصی ژنتیک پزشکی
آزمایشات تشخیص ژنتیک بر روی بند ناف نوزادان

موسس و مسئول فنی:

دکتر مجید خیراللهی

36269587 | 09137216113 | 36269586

خیابان شریعتی غربی، بین چهارراه پلیس و حکیم نظامی، پلاک ۲۰۸

آدرس: اصفهان خیابان شریعتی غربی

همراه دکتر خیراللهی: ۰۹۱۳۳۲۸۶۱۱۳

تلفن: ۰۹۱۳۷۲۱۶۱۱۳ و ۰۷-۳۶۲۶۹۵۸۶

geneazma.ir

@geneazma

