مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
سال دوازدهم ، شماره‌های ۳ و ۴ ، صفحه ۱۳۷

تشخیص قبل از تولد، نمونه‌گیری از پرزهای کوریونی

دکتر پروین مهدی‌پور*، دکتر جمشید ناصری**، دکتر فربد فرهی**

خلاصه

تشخیص قبل از تولد ،با استفاده از مایع مشیمه (آمنیوتیک) تحت عنوان (آمنیوسنتز) ونمونه‌گیری از پرزهای کوریونی (CVS) ، عبارت است از مجموعه‌ای از اعمال در ژنتیک انسانی به‌منظور تشخیص موارد واختلالات مختلف ژنتیک اعم از کروموزومی و ژنی (مطالعات آنزیمی ، تجزیه DNA و تهیه کاریوتیپ جنینی) می‌شود .تشخیص اختلالات ژنتیک در آمنیوسنتز بین ۱۶ تا ۲۰ هفتگی بارداری ودر نمونه‌گیری از پرزهای کوریونی بین هفته‌های ۸ تا ۱۲ بارداری امکان‌پذیر است و امتیاز (CVS) به روش آمنیوسنتز در نتیجه‌گیری سریع ، یعنی قبل از ۳ ماهگی ، است .برای نمونه‌گیری از پرزهای کوریونی نیازی به بستری کردن بیمار نیست ، این کار دردی ندارد و نیازی به خوردن آرامبخش نیست .

نمونه‌گیری از پرزهای کوریونی در موارد زیر انجام می‌شود : ۱. بررسیهای سیتوژنتیک .۲. بیماریهای متابولیک؛ ۳. تجزیه DNA ؛ ۴. تشخیص لوسمی جنینی؛ ۵. بیماری ایدز؛ ۶. اختلالات لوله عصبی .

مقدمه

تشخیص قبل از تولد (Prenatal diagnosis) به مفهوم کسب آگاهی و تشخیص موارد و اختلالات مختلف ژنتیک قبل از تولد است . تعیین کاریوتیپ جنین یکی از موارد فوق است. این عمل تعیین جنسیت جنین را نیز در برمی‌گیرد که در نتیجه از این راه می‌توان به وجود ناهنجاریهای کروموزومی پی برد و احتمال بروز بیماریهای وابسته به جنس را مشخص کرد . مورد دیگر تشخیص بیماریهایی است که توسط ژن‌ها کنترل می‌شوند و امروزه می‌توان حدود ۵۰ بیماری سوخت و سازی (متابولیکی) راقبل‌ازتولدتشخیص‌داد؛ازآن‌جمله :کمبود آنزیمهای گالاکتوکیناز (galactokinase) G6PD گلیکوژنز ، (glycogenesis) بیماریهای ناشی از سوخت و ساز مواد چربی ، بیماریهای ناشی از کمبود موکوپلی ساکاریدها (mucopolysaccharidosis) موکولیپیدوزها (mucolipidosis) بیماریهای ناشی از اسیدهای آمینه (cystinosis) و غیره . ناهنجاریهای ژنتیک ناشی ازنقص‌لوله عصبی مثل اسپینا ـ بیفیدا (spina bifida) منگومیلوسل (meningomyelocele) بی‌مغزی (anencephaly), و اندازه‌گیری میزان آلفا ـ فتو پروتئین (α - Fetoprotein)- که یک گلیکوپروتئین است ـ و همچنین بیماری تالاسمی (Thalassemia) کمخونی داسی شکل (Sick cell anemia) و ضایعات هموگلوبینی همچنین

* واحد ژنتیک انسانی و انسانشناسی دانشکده بهداشت (دانشگاه علوم پزشکی تهران)
** بخش زنان آسیب‌شناسی ، سیتوژنتیک بیمارستان پارس

لوسمی از طریق روشهای مولکولی و سنجش DNA قبل از تولد ، قابل تشخیص‌اند .

تشخیص قبل از تولد از دو راه امکانپذیر است :

۱) آمنیوسنتز (AC)

تشخیص قبل از تولد ، در ابتدا با کشیدن مایع مشیمه (آمنیوسنتز) پی‌ریزی شد . در این روش از مایع مشیمه (آمنیوتیک) در فاصله بین ۱۶ تا ۲۰ هفتگی دورهٔ بارداری با کمک دستگاه فراصوت‌نگاری (اولتراسونوگرافی) استفاده می‌شود . کاربرد این روش مستلزم صرف زمانی بین ۳ تا ۴ هفته است که علی‌رغم طولانی بودن آن هنوز از اهمیت خاصی برخوردار است .

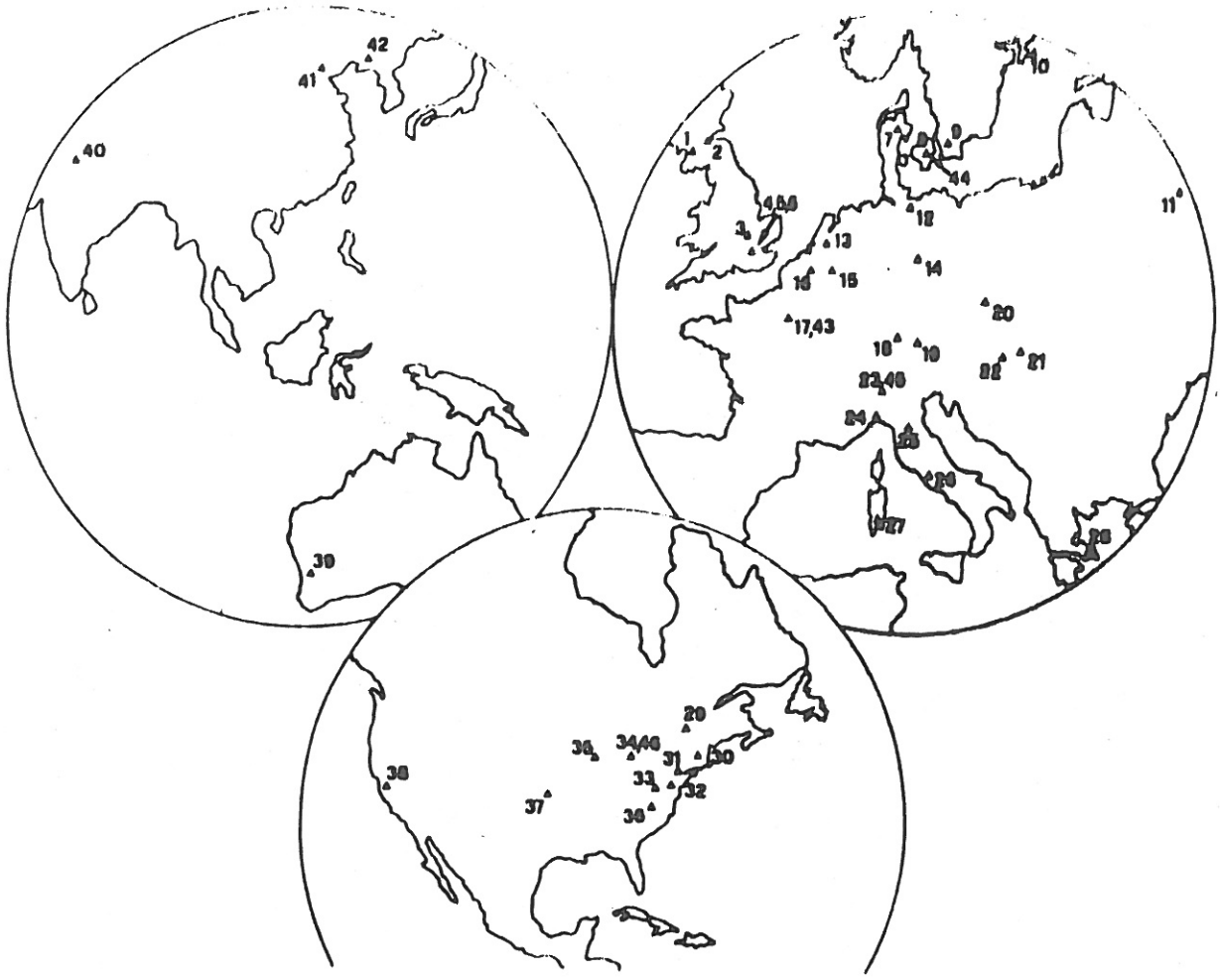
۲) نمونه‌گیری از پرزهای کوریونی (CVS)

با تلاش محققان روش جدیدی معروف به نمونه‌گیری پرزهای کوریونی (chorionic villi sampling) ابداع شد . در این روش که با نمونه‌گیری از بافت تروفوبلاستیک (Trophoblastic) انجام می‌شود ، تشخیص قبل از تولد ، اختلالات وراثتی در هفته‌های ۸ تا ۱۲ دوره بارداری ــ یعنی خیلی زودتر از روش آمنیوسنتز امکان‌پذیر است . اگرچه نمونه‌گیری از پرزهای کوریونی به‌عنوان یک روش جدید به‌حساب می‌آید ، در واقع تاریخچهٔ آن به ۱۵ سال قبل برمی‌گردد . اولین کوشش توسط دو گروه از اسکاندیناوی به بن‌بست برخورد (۱ و ۳) . پیشرفت در این روش جدید برای تشخیص قبل از تولد ، در سه ماهه اول حاملگی ، حاصل کوششهای گروههای مختلفی از محققان است . آنها معتقد بودند که کوریون یک نمونه مناسب برای مطالعات آنزیمی ، تجزیه DNA و تهیه کاریوتیپ جنین است و بدین وسیله نمونه‌گیری از راه گلوی زهدان (ترانس سرویکال) توسط گروه متخصصان زنان بیمارستان تیتونگ (Tietung) در سال ۱۹۷۵ (۸) انجام شد . این کوششها تا سال ۱۹۸۳ کاربرد عملی روزمره و واقعی نداشت ، تا اینکه در این سال محاسن و معایب این روش مورد بررسی قرار گرفت و فقط ۵ مرکز در دنیا به نام گروه فعال سازمان بهداشت جهانی (WHO) قادر به تشخیصی قبل از تولد با روش CVS بودند (۱۰) ، سیمونی (Simoni) و همکاران در سال ۱۹۸۳ (۶) با روش مکش (آسپیراسیون) نمونه پرزهای کوریونی ۳۷۲ زن باردار را در هفته‌های ۶ تا ۱۲ بارداری مورد بررسی ژنتیکی قرار دادند و بدین نتیجه رسیدند که CVS برای تشخیص سریع و مستقیم اختلالات ژنتیک ــ خواه کروموزومی یا سوخت‌و سازی ــ روش خوبی است .

یک سال بعد مجددا" سیمونی و همکاران در سال ۱۹۸۴ (۷) نتایج کاربرد تشخیصی بافت تروفوبلاست را در ۱۰۰ زن باردار ارائه دادند . در این بررسی ۱۲ مورد اختلال کروموزومی مشاهده شد . دو مورد تریزومی (Trisomy) در ۸ مورد حاملگی که در معرض خطر تحلیل عضلانی دوشن (Duchenne's muscular dystrophy) بودند تشخیص داده شد . این مسئله اهمیت تعیین جنسیت را در بیماری ذکر شده که بسته به کروموزم X (X- linked) است ، نشان می‌دهد . در این مطالعه رقمی برابر ۸درصد برای جنینهای نابهنجار در مورد مادرانی که ۳۵ سال یا بیشتر دارند ارائه شده است . این رقم خیلی بالاتر از احتمال سقط جنین‌ناشی از CVS (۰/۵ تا ۱درصد) است . تعیین نوع آنزیم در سه مورد حاملگی که در معرض خطر ابتلا به کانگلیوزیدوز GM_1 (gangliosidosis GM_1) بیماری نیمان ــ پیک (Nieman — pick disease) و نشانگان هارلر (Hurler's syndrome) قرار داشتند ، انجام گرفت . تا اکتبر ۱۹۸۴ بیش از ۴۰ مرکز (بیشتر در اروپا و امریکای شمالی) جزء صورت اصلی بررسی همگام CVS قرار داشتند که روی هم‌رفته حدود ۳۰۰۰ تشخیص را تحت مطالعه و بررسی قرار دادند (۲) . در سال ۱۹۸۶ ورکمنز (Verkmans) و همکاران ۸۵ مورد (۱۰) را تحت بررسیهای سیتوژنتیک قرار دادند که ۱۲ مورد ناهنجاری کروموزومی تشخیص داده شد . شکل ۱ گسترش جغرافیایی مراکز CVA را در اکتبر ۱۹۸۴ نشان می‌دهد . در سال ۱۹۸۸ ایران نیز به فهرست مراکز تشخیص قبل از تولد اضافه‌گردید (مهدی پور و همکاران ، ۱۹۸۸) (۵) . در این بررسی نمونه‌گیری از پرزهای کوریونی (CVS) در ارتباط با بررسیهای سیتوژنتیک انجام گرفته است .

نحوه نمونه‌گیری از پرزهای کوریونی

حدود ۵ تا ۲۰ میلیگرم نمونهٔ پرزهای کوریونی (سلول‌های تروفوبلاستیک) با روش مکش (آسپیراسیون) کافی است و برای نیل به این هدف محل‌یابی جفت مهم است (شکل ۲) . جفت در ۳ ماهه اول حاملگی کلفت‌ترین منطقه در کیسه آبستنی است و قابلیت تغییرپذیری (پیچیدگی) بالایی

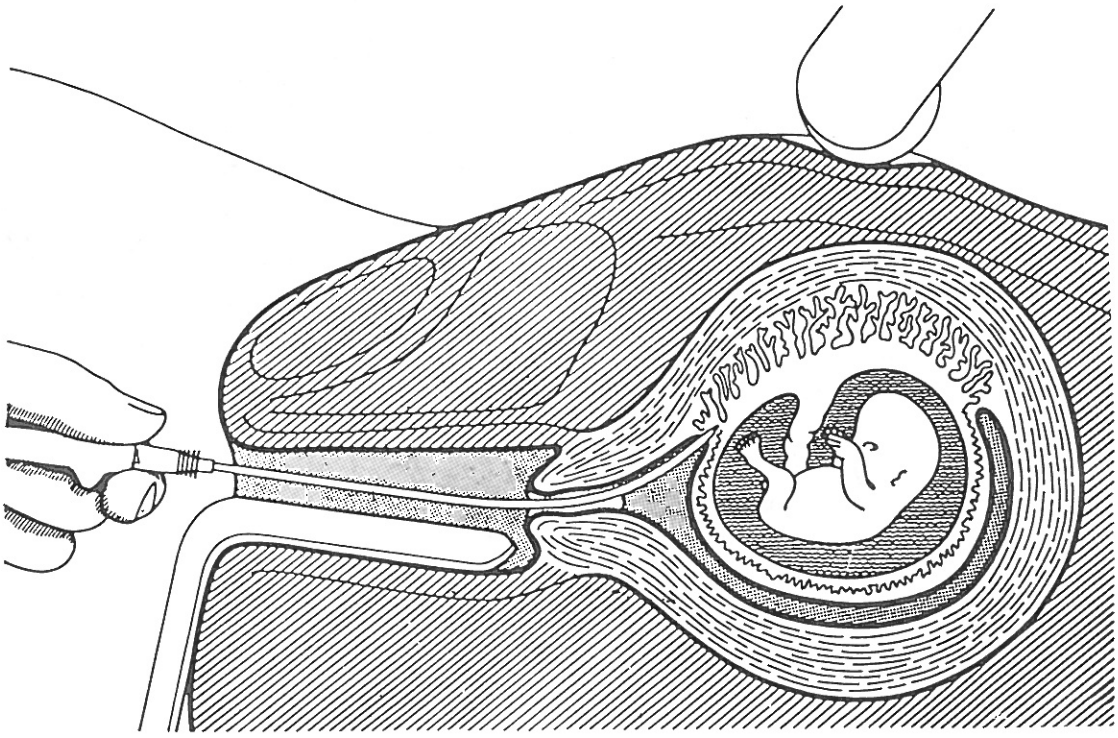


شکل ۱. گسترش جغرافیایی مراکز (CVS) در اکتبر سال ۱۹۸۴.

۱ـ گلاسکو، ۲ـ ادینبورک، ۳ـ اکسفورد، ۴، ۵، ۶ـ لندن، ۷، ۸ـ کپنهاک، ۹ـ لوند (سوئد)، ۱۰ـ استکهلم، ۱۱ـ مسکو، ۱۲ـ لوبک (آلمان غربی)، ۱۳ـ روتردام (هلند)، ۱۴ـ نورتهایم، ۱۵ـ لیژه، ۱۶ـ بروکسل (بلژیک)، ۱۷ ـ پاریس، ۱۸ ـ اولم (آلمان غربی)، ۱۹ ـ مونیخ، ۲۰ ـ پراگ، ۲۱ ـ بوداپست، ۲۲ ـ سژد، ۲۳ ـ میلان (ایتالیا)، ۲۴ـ ژنو، ۲۵ـ مونتچیو، ۲۶ ـ رم، ۲۷ـ کاگلیاری، ۲۸ـ آتن، ۲۹ـ مونترال، ۳۰ـ هاوانای جدید، ۳۱ـ نیویورک (امریکا)، ۳۲ـ فیلادلفیا، ۳۳ـ واشنگتن، ۳۴ـ شیکاگو، ۳۵ـ دیترویت، ۳۶ـ ریچموند، ۳۷ـ کانزاس سیتی، ۳۸ـ سانفرانسیسکو، ۳۹ـ پرت، ۴۰ـ دهلی، ۴۱ـ پکن، ۴۲ـ آنشان، ۴۳ـ تهران (ایران).

دارد و معمولا" در پایین قرار می‌گیرد؛ تا هفته ۱۲ کیسه آبستنی ظرفیت رحم را پر نمی‌کند ، بنابراین ، تشخیص همواری پیشرفتهٔ فضای هیپواکوژنیک(hypoechogenic)راکه به دنبال مجرای آندومتر (endometric)است) ، امکانپذیر می‌سازد . کیسه آبستنی منطقه‌ای هیپواکوژنیک است که یک مرزاکوژنیک ، مربوط به کوریون نرم (chorion laeve) و کپسول

این وضعیت تشخیص محل جفت امکانپذیر نیست . از طرف دیگر به نظر می‌رسد که بعد از هفته هشتم ردیابی بندناف صفحه‌کوریون با استفاده از روش صوت‌نگاری (high resolution) یعنی (ultrasound,ATL MK300,5MHZ,sector scan) امکان داشته باشد ، بنابراین ، اطلاعات به دست آمده از مجرای آندومتر و درج بندناف احتمالا پزشک را از مشخص



شکل ۲ . روش نمونه‌گیری از پرزهای کوریونی (CVS) در هفته‌های ۸ تا ۱۲ حاملگی با استفاده از لولهٔ پورتکس و با کمک فراصوت‌نگاری .

دسیدوآ ، در پیرامون آن قرار دارد . با ضخیمتر شدن کوریون پرزدار(chorionic frondosum) منطقه‌ای از جفت تشکیل می‌شود که بر اثر تحلیل تدریجی چینها و تیغه‌های تروفوبلاستیک (arborescences) تا انتهای ۳ ماهه اول به صورت غشای صاف و نازکی در می‌آید . مع‌هذا گاه بر اثر فشار وارده از سر دستگاه صوت‌نگاری به شکم ، موفقیت مجرای آندومتر ممکن است واقعا" مبهم به نظر برسد ، که‌در

شدن پرزهای کوریونی مطمئن می‌سازد . مهمتر از آن ، موارد دوقلویی با جفت یکسان را بدین‌صورت توجیه می‌کند که شناسایی بندناف ، نمونه‌گیری ار دو جنین را تضمین می‌کند .

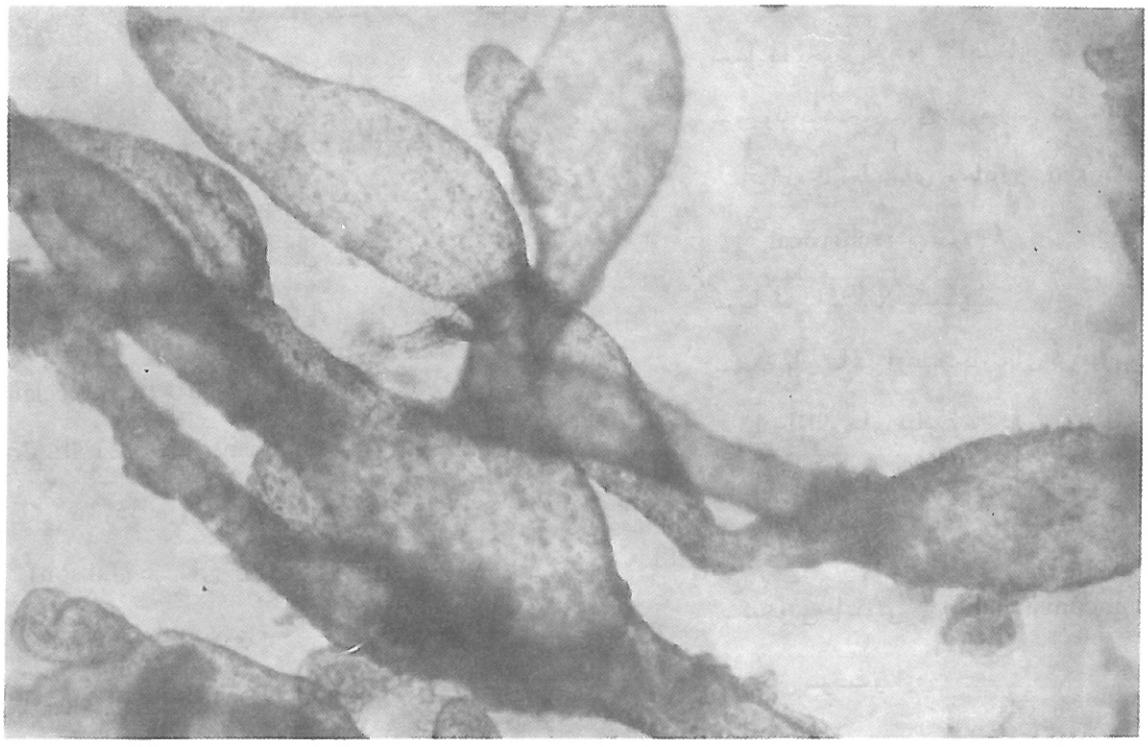
برنامه‌ریزی نمونه‌گیری از پرزهای کوریونی

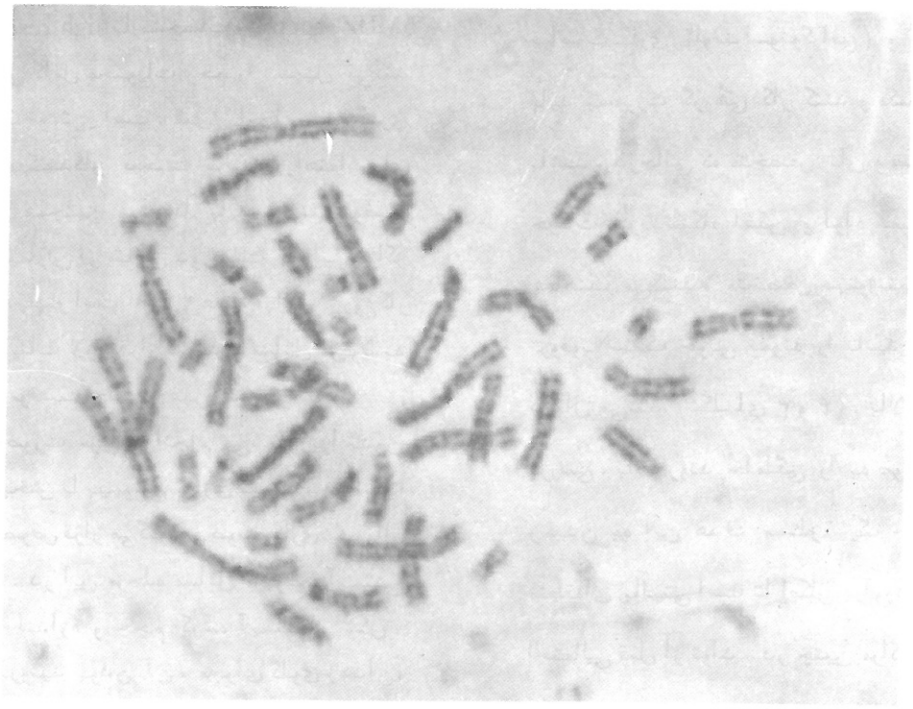
نمونه‌گیری از پرزهای کوریونی(CVS) باید تحت‌نظر متخصص زنان که در این کار تجربه علمی و عملی دارد ، در مراکز

معتبر خدمات و مشاوره ژنتیک انجام شود. داشتن امکان صوت‌نگاری high resolution با مشخصات 5MHZ, sector scan مشخص کردن کامل محتویات رحم را تسهیل می‌کند و در نمونه‌گیری کمک موءثری است. قبل‌از انجام نمونه‌گیری باید با تمام مراجعه کنندگان صحبت کرد تا راهنمائیهای لازم انجام گیرد. همچنین روش کار باید به‌آنها توضیح داده شود. گاهی بیماران از مناطق دوردست به این مراکز فرستاده می‌شوند که بهتر است ۱ تا ۲ هفته قبل از شروع‌کار تحت بررسیها و معاینات لازم قرار گیرند و مسائل مربوط به رشد و حجم رحم، موقعیت جفت و غیره مشخص شود.

نمونه‌گیری به‌صورت سرپایی انجام می‌شود زیرا بدون درد است و به‌آرامبخش یا بیهوشی نیازی نیست. در ابتدا بیمار روی تخت مخصوص قرار می‌گیرد و صوت‌نگاری به روال عادی شروع می‌شود. در این مرحله مسائل مربوط به‌آبستنی یک یا چندقلویی، اندازه و حجم کیسه آبستنی، شکل، موقعیت رحم و فیبروئید بودن آن، مجرای گلوی زهدان، موقعیت جفت، موقعیت ناحیه گشن‌گیری، محل اتصال بند ناف و جسم زرد و همزمان، دریاچه‌های جفتی و غیره مشخص می‌شوند. بعد از ضدعفونی کردن، با میله‌نمونه‌گیری مقدار حدود ۵ تا ۲۰ میلیگرم نمونه گرفته می‌شود و با بررسیهای ژنتیک کار ادامه می‌یابد. افرادی که در برنامه ریزی CVS فعالیت دارند، یعنی متخصص زنان و متخصص فراصوت‌نگاری (اولتراسونوگرافی) و متخصص سیتوژنتیک باید به‌صورت گروهی کار کنند و مکمل تواناییهای یکدیگر باشند. درحالی که متخصص زنان و صوت‌نگاری (سونوگرافی) حرکات سر دستگاه اسکن و لوله نمونه‌گیری (کاتتر) را هماهنگ می‌کنند، متخصص سیتوژنتیک با تشخیص بافت تروفوبلاستیک خوبی نمونه را تایید و کارهای ژنتیکی را دنبال می‌کند (شکلهای ۳ و ۴). بالاخره با یک پیش‌نویس بررسی، باید روند حاملگی را به طور مناسبی تعقیب کرد. رسیدن به این هدف مستلزم یک حاکمیت بین‌المللی و منطقه‌ای بالینی است تا امکان برآورد خوب از تشخیصهای احتمالی قبل از تولد، در چنین مراکزی وجود داشته باشد.

سلامت مادر و جنین در اوایل حاملگی در تشخیص قبل از تولد به روش CVS مسئله بسیار قابل توجهی است. آیا مکش آسیبی روی جنین یا بچه ــ قبل و یا بعد از تولد ــ دارد؟ آیا این کار منجر به سقط جنین می‌شود؟ توضیحات





شکل ۴. مرحله میتوز در نتیجه تقسیم سلول تروفوبلاستیک بعد از نمونه‌گیری از پرزهای کوریونی بزرگنمایی x ۱۰۰۰

مختصری که در ذیل آورده می‌شود جوابگوی این سؤالهاست .

بین سالهای ۱۹۷۰ تا ۱۹۷۹ در کشور چین حدود ۴۰۰ مورد مکش پرزهای کوریونی انجام شد که بیشتر برای تشخیص جنسیت بود و از این تعداد ۶۶ کودک را تحت بررسیهای پیگیر قرار دادند تا مراحل رشد و نمو طبیعی ــ چه در دوران جنینی و چه پس از تولد ــ را داشته باشند . مسائل مختلف از قبیل : زایمان زودرس ، دیررسی ، تغییر شکلها ، خود ایمنی ABO مسائل مربوط به مادر مثل پره‌اکلامپسی (preeclampsia) ، افزایش فشارخون ، مرض قند (دیابت) ، مسئله قطع ناگهانی جفت (abruption placenta) گزارش شد. عقب‌ماندگی در رشد درون رحمی نیز در نمونه‌های تحقیق جکسون (Jakson) در سال ۱۹۸۵ (۲) گزارش شد که با متوسط ارزشهای جمعیت عمومی مطابقت دارد و این یافته‌ها توسط گزارشهای رسیده از سایر بررسیها ــ که تعداد بیشماری از نمونه‌های پرزهای کوریونی را داشتند ــ نیز تایید شد .

کاربرد روش (CVS)

۱. بررسیهای سیتوژنتیک :

ــ سن مادر (موارد non-disjunction) ؛

ــ سابقه وجود بچه‌ای با ناهنجاری کروموزومی ؛

ــ وجود ناهنجاریهای کروموزمی در والدین (مثل انواع جابجاییهای متعادل balanced، واژگونی recip rocal و غیره) ؛

ــ سابقه داشتن X شکننده ؛

ــ سقطهای ناشی از ناهنجاریهای کروموزمی درخانواده یا حاملگی‌های قبلی ؛

ــ بیماریهای وابسته به کروموزوم X (مثل هموفیلی و دیستروفی عضلانی) ؛

ــ کمخونی فانکونی (Fanconi anemia) .

۲. بیماریهای سوخت‌وسازی

اسفینوگل (لیپیدوز) lipidoses (Sphinogal)

گانگلیوزیدوز GM_2 (تای ــ ساش)

GM_2 – gangliosidosis (Tay-Sacsh)

گانگلیوزیدوز GM_2 (سندهوف)

GM_2 – gangliosidosis (Sandhoff)

گانگلیوزیدوز GM_1

GM_1 – gangliosidosis

لوکودیستروفی متاکروماتیک

metachromatic leukodystrophy

نقص متعدد آنزیم سولفاتاز

multiple sulfatase deficiency

بیماری فاربی Farby's disease

بیماری کرب Krabbe's disease

بیماری نیمان ــ پیک Nieman-Pick disease

بیماری فاربر Farber's disease

بیماری ولمن Wolman's disease

ــ اختلالهای آنزیمی

نشانگان فانکونی ــ آلبرتینی ــ زلورگر

Fanconi - Albertini - Zellwerger syndrome

آدرنولوکودیستروفی adrenoleukodystrophy

نشانگان منکز Menke's syndrome

نشانگان لش ــ نیهان

Lesch -- Nyhan syndrome

نقص ایمنی مرکب combined immunodeficiency

کمبود آلفایک ــ آنتی تریپسین

α - 1 antitrypsin deficiency

ــ اختلالات مربوط به کربوهیدرات ها

موکوپلی ساکاریدوز

I – H (نشانگان هارلر)

II– (Hunter's syndrome) II (نشانگان هانتر)

III ــ نشانگان سنفیلیپو

III – A (Sanfilippo's syndrome)

IV – (نشانگان مورکیو)

IV– (Morquio's syndrome)

گلیکوژنز

موکولیپیدوز

ــ اختلالات مربوط به اسیدهای آمینه

سیترولینمی Citrullinemia

آرژینینوسوکسینیک اسید اوره methyemalonicacidemia

argininosuccinicaciduria

هوموسیستین اوری homocystinuria

سیستینوز (نشانگان فانکونی)

cystinosis (Fanconi's syndrome)

بیماری ادراری شیرهٔ افرا

maple syrup urine disease

۳. تجزیه DNA

ــ تجزیه جنسیت جنین (برای تشخیص هموفیلی و تحلیل عضلانی دوشن)

ــ کمبود اورنی‌تین کاربامویی ترانسفراز

Orinithine carbamoye Transferase deficiency

ـ بیماری عضلانی میان هسته‌ای

Centronuclear myopathy

ـ اختلالات رنگدانه‌ای incontinentia pigmenti

ـ ضایعات هموگلوبین

ـ کمخونی داسی شکل

ـ تالاسمی بتا .

۴. تشخیص لوسمی جنینی

۵. بیماری ایدز (نشانگان نقص اکتسابی ایمنی) AIDS

(acquired immuno–deficiency syndrome)

۶. بیماریهای لوله عصبی

اسپینا بیفیدا

مننگومیلوسل

بی‌مغزی (آنسفالی) .

هر یک از موارد ذکر شده بالا با روشهای اختصاصی خود تعیین می‌شوند و در خاتمه مناسب با نوع بیماری ژنتیک، مشاوره ژنتیک ـ با در نظر گرفتن احتمال بروز بیماری مورد نظر ـ به بیمار داده خواهد شد .

مراجع

1. Hahnemann N: Early prenatal diagnosis: A study of biopsy techniques and cell culturing from extraembryonic membranes. Clin Genet 10: 294–306, 1974
2. Jacksone LG: CVS latest news (Thomas Jefferson University Philadelphia) Feb 2, 1985
3. Kullander S, Sandahl B: Fetal chromosome analysis after reanscervical placental biopsies during early pregnancy. Acta Obstet Gynecol Scand 52: 355–359, 1973
4. Meenes TD, Miller JD, Hilly LF.: Amniography. Preliminary report. Amer J Roentgenol 24: 363, 1983
5. Mehdipour P. Nasseri J. Farrahi F: Application of chorionic villi sampling (CVS) for cytogenetic diagnosis in Iran (in Press, 1988)
6. Simoni G, Brambati B, Danesino C, Rosella F, Terzoli GL, Ferrari M, and Fraccaro M: Efficient direct chromosome analysis and enzyme determinations from chorionic villi samples in the first trimester of pregnancy. Hum Genet 63: 349–357, 1983
7. Simoni G, Brambati B, Danesino C, Terzoli GL, Romitti L, Rossela F, and Fraccero M: Diagnostic application of first trimester trophoblast sampling in 100 pregnancies. Hum Genet 66: 252–259, 1984
8. Tietung, Hospital Department of Obstetrics and Gynecology: Fetal sex prediction by sex chromatin staining of chorionic villi cells during early pregnancy. Chin Med J 1: 117, 1975
9. Vekemans MJJ, and Perry TB: Cytogenetic analysis of chorionic villi. A technical assesment. Hum Genet 72: 307–310, 1986
10. World Health organization working group: Fetal diagnosis of heriditary disease. Bull WHO 62: 345–355, 1984