

تست ترکیبی

سه ماهه‌ی اول حاملگی و تست‌های یکپارچه

برای غربالگری سندروم داون و تریزومی ۱۸

چکیده:

در این مقاله به انواع تست‌های در دسترس برای تشخیص دو تریزومی مهم یعنی سندرم داون و تریزومی ۱۸ می‌پردازیم. در صورتی که خانم باردار تقاضای انجام تست غربالگری داشته باشد ما پیشنهاد تست ترکیبی سه ماهه اول را به او می‌دهیم و اگر دیر مراجعه نموده باشد تست چهارگانه را درخواست می‌کنیم و در هر مرحله راجع به تست دقیق‌تر ولی با هزینه بالاتر که همان تست cell free DNA است به او مشاوره می‌دهیم. در صورت مثبت شدن این تست‌های غربالگری برای اثبات تشخیص باید تست تهاجمی یعنی آمنیوسنتز یا نمونه‌گیری از پرزهای جفتی (CVS) انجام گیرد.

■ دکتر رقیه آهنگری

متخصص زنان و زایمان
فلوشیپ پره ناتولوژی

کلیدواژگان: سندرم داون، تریزومی ۱۸، تست ترکیبی، تست متوالی، تست چهارگانه، تست سه گانه، تست یکپارچه، حاملگی، Cell free DNA.

پیشگفتار

واژه‌نامه‌ای از اصطلاحات توصیف کننده تست‌های مختلف به کار رفته در غربالگری سه ماهه‌ی اول و دوم را برای سندرم داون در جدول شماره‌ی یک نشان داده است.

GLOSSARY OF DOWN SYNDROME SCREENING TERMS

Nuchal translucency (NT) measurement
The width of the translucent space at the back of the fetal neck determined by ultrasound.
Combined test
First trimester test based on sonographic and maternal serum measurements: NT, β -human chorionic gonadotropin (β -hCG: free or total), and pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A), together with maternal age.
Triple test
Second trimester test based on measurement of maternal serum alpha-fetoprotein (AFP), unconjugated estriol (uE), and β -hCG (free or total), together with maternal age.
Quadruple test
Second trimester test based on measurement of maternal serum AFP, uE , β -hCG, and inhibin-A, together with maternal age.
Integrated test (full)
The integration of measurements performed during the 1st and second trimesters into a single test result. Typically, the integrated test refers to the integration of NT and PAPP-A measurements in the 1st trimester with the quadruple test markers in the second trimester, together with maternal age.
Serum integrated test
A variation of the integrated test using maternal serum markers only: PAPP-A in the 1st trimester and the quadruple markers in the second trimester, together with maternal age.

جدول ۱

(Beta-human chorionic gonadotropin)

PAPP-A- سرم مادر

(Pregnancy-associated plasma protein-A)

- اندازه‌گیری سونوگرافیک NT (Nuchal translucency)

این سه مارکر به عنوان تست ترکیبی "Combinel test" می‌باشد و همراه با سن مادر یک ریسک برای مادر تعیین می‌گردد. تست ترکیبی سه ماهه‌ی اول تقریباً ۸۵٪ از موارد سندرم داون را مشخص می‌کند. به عبارتی $\text{DR} = \text{sensitivity} = 85\%$ (DR) با میزان مثبت کاذب ۵٪. همچنین این تست می‌تواند تریزومی ۱۸ را نیز تشخیص دهد.

ارزایی ریسک اولیه و تشخیص اینورمالیتی جنین، به زوجین اجازه می‌دهد تا فرصت زیادی برای تصمیم‌گیری داشته باشند و اگر تصمیم به ختم بارداری بگیرند، روش‌های امن‌تری وجود دارد.

غربالگری ترکیبی سه ماهه‌ی اول بارداری

فواید آشکاری برای انجام غربالگری سندرم داون در اوایل بارداری وجود دارد، که مهمترین آن تشخیص زودتر و اقدام به ختم حاملگی زودتر و امن‌تر می‌باشد. غربالگری سه ماهه‌ی اول سندرم داون در اواخر سه ماهه‌ی اول، انجام شده و بین ۹ هفته تا ۱۳ هفته + ۶ روز می‌باشد. تست ترکیبی غربالگری سه ماهه‌ی اول، مرکب از ۳ مارکر می‌باشد:

- βhCG سرم مادر

PERFORMANCE OF THREE DIFFERENT SCREENING TESTS IN THE FASTER TRIAL IN WOMEN UNDER 35 AND IN WOMEN 35 AND OLDER

Screening test	< 35 years old		≥ 35 years old		Overall	
	DR, percent	FPR, percent	DR, percent	FPR, percent	DR, percent	FPR, percent
1st trimester combined	75	5.0	95	22	86	5.6
2nd trimester quadruple test	77	2.3	92	13	85	8.5
1st and 2nd trimester full integrated test	77	0.4	91	2	85	about 1

جدول ۲

سطوح اش به طور متوسط در حاملگی‌های با سندروم داون پایین تر است. بین ۹ و ۱۳+۶ هفته به عنوان یک مارکر غربالگری، کارآیی PAPP-A کاهش می‌یابد که از این نظر برعکس $\beta\text{-hCG}$ می‌باشد.

NT.۳

سومین مارکر در تست ترکیبی سه ماهه اول ضخامت نیمه شفافی (trans lucency) خلف گردن جنین می‌باشد که با سونوگرافی بین ۱۰+۳ تا ۱۳+۶ هفته‌ی اندازه‌گیری می‌شود و در جنین‌های با سندرم داون افزایش می‌یابد. کارآیی NT با پیشرفت حاملگی بین ۱۰ و ۱۳ هفته کاهش می‌یابد.

عمومی‌ترین مقدار به کار رفته به عنوان حد فاصل بین عدد طبیعی و غیر طبیعی برای NT بین صدک‌های ۹۵ و ۹۹ براساس سن حاملگی می‌باشد. ماشین حساب‌های مختلفی به صورت Online در دسترس هستند که قادرند با وارد کردن CRL جنین و اندازه NT، سن حاملگی و صدک NT را بدست آورند. به علت تفاوت در تجربه پزشک و کیفیت دستگاه سونوگرافی، کارآیی NT به عنوان یک مارکر غربالگری، همسان و ثابت نمی‌باشد. به این دلیل، آموزش مناسب و ارزیابی کیفیت مداوم عناصر اصلی برنامه‌های غربالگری است.

تست ترکیبی سه ماهه‌ی اول، کمی بهتر از تست چهارگانه‌ی سه ماهه دوم می‌باشد و با میزان تشخیص (DR) بالاتر و مثبت کاذب کمتری می‌باشد.

زمان نمونه‌گیری خون و انجام سونوگرافی

تست‌های خونی و سونوگرافی برای تست ترکیبی عموماً در حدود هفته ۱۱ تا ۱۳+۶ انجام می‌شود. بعضی پروتکول‌ها در حوالی هفته ۹ بارداری نمونه خون می‌گیرند؛ به طوری که نتایج برای زمانی که سونوگرافی چندین هفته بعد انجام می‌گردد، برای گزارش فوری در دسترس است.

۱. $\beta\text{-hCG}$

سطوح $\beta\text{-hCG}$ در حاملگی‌های با سندروم داون به طور متوسط دو برابر بالاتر از حاملگی‌های با جنین نرمال می‌باشد و می‌تواند به شکل آزاد یا توتال اندازه‌گیری گردد. بین ۱۱ تا ۱۳+۶ هفته. اینکه فرم آزاد بهتر است یا فرم توتال، توافق عمومی وجود ندارد؛ ولی بین ۹ تا ۱۱ هفته فرم آزاد چک می‌گردد.

۲. PAPP-A

PAPP-A یک گلیکوپروتئین با وزن مولکولی بالا و پیچیده می‌باشد و

تست‌های غربالگری یکپارچه یا Integrated Tests

در این تست از مارک‌های اندازه‌گیری شده در هر دو سه ماهه اول و دوم استفاده می‌شود تا یک تخمین از ریسک حاملگی با سندرم داون به دست آید. تست‌های سه ماهه دوم شامل: آلفا-فتوپروتئین (AFP)، استریول غیرکونژوگه (UE3)، Inhibin-A و β hcG می‌باشد. (جدول ۱)

مقادیر این ۶ مارک همراه با سن مادر یک ریسک منفرد (Single risk) برای سندرم داون محاسبه می‌گردد و گزارش داده می‌شود. تست یکپارچه (integrated) حدود ۸۵٪ میزان تشخیصی (DR) یا حساسیت تشخیصی دارد و میزان مثبت کاذب ۱٪ می‌باشد.

برای غربالگری ترکیبی سه ماهه‌ی اول، اندازه NT با نتایج مارکر سرمی ترکیب می‌شود. یک استثناء در اینجا، در جنین‌های با هیگرومای کیستیک گردنی یا NT واضحاً بزرگ وجود دارد که در این موارد نیاز به انجام مارک‌های سرمی یعنی β -hcG و PAPPa نمی‌باشد و اکثراً به طور مستقیم جهت کاربوتایپ ارجاع می‌گردند. البته آستانه NT برای این ارجاع روشن نیست و اکثراً NT در میزان ۳-۴ میلی‌متر مطرح شده است که برای سندرم داون نسبتاً پرخطر می‌باشد. لازم به ذکر است بزرگی NT با مالفورماسیون‌های ساختمانی دیگر نیز مانند بیماری مادرزادی قلب، همراهی دارد.

DETECTION RATE AND FALSE POSITIVE RATE FOR DOWN SYNDROME SCREENING TESTS - FIRST AND SECOND TRIMESTER EVALUATION OF RISK TRIAL (FASTER) AND SERUM, URINE AND ULTRASOUND SCREENING STUDY (SURUSS)

Test	FASTER*		SURUSS**		
	Detection rate, percent	FPR, percent	Detection rate, percent	FPR, percent	Procedure related losses per 100,000 women screened
Full integrated	85	0.8	85	0.9	6
	95	5	90	2.1	15
Serum integrated	85	4.4	85	3.9	28
	95	17	90	7.4	53
Combined	85	4.8	85	4.3	35
	95	21	90	8.4	60
Quadruple	85	7.3	85	6.2	45
	95	22	90	10.6	76
Triple	85	14	85	9.3	67
	95	32	90	14.7	106

FPR: false positive rate.

* For FASTER, the 1st trimester combined test or 1st trimester component of the integrated test was done at 12 completed weeks of gestation.

** For SURUSS, the 1st trimester combined test or 1st trimester component of the integrated test was done at 11 completed weeks of gestation.

جدول ۳

نیست. این مشکل را می‌توان با شیوه متوالی (Sequential approach) به میزان زیادی برطرف کرد که به صورت روش پلکانی (Step-wise) یا مشروط (Contingent) انجام می‌شود.

۱. روش پلکانی (Step-wise) در Sequential approach:

در این روش تست ترکیبی سه ماهه‌ی اول انجام می‌شود و در صورتی که بیمار در گروه خیلی پرخطر قرار گیرد (کوچکتر یا مساوی یک صدو پنجاهام برای سندرم داون) به بیمار مشاوره داده می‌شود تا نمونه‌گیری از

کاهش در مثبت کاذب در تست‌های غربالگری بسیار مطلوب و پسندیده است چون میزان کمتری سقط به ازای هر تشخیص جنین داون مرتبط با اقدام تشخیصی (آمنیوسنتز یا نمونه‌گیری از پرز جفتی) رخ خواهد داد. علاوه بر اینکه میزان مثبت کاذب کمتر باعث می‌شود افراد کمتری دچار اضطراب ناشی از نتایج مثبت کاذب شوند و این اضطراب باعث کاهش همکاری و شرکت این افراد در غربالگری سندرم داون در حاملگی بعدی می‌گردد و حتی اقدام به بارداری بعدی را دچار مشکل می‌نماید. مشکل تست یکپارچه این است که نتایج نهایی تست تا سه ماهه دوم در دسترس

تشخیصی و اداره بیماری داده شود.

زنان با تست غربالگری مثبت برای آنالیز کروموزومی قطعی جنین ارجاع می‌شوند یعنی همان کاریوتاایپ که اگر قبل از ۱۴ هفته‌ی بارداری باشد با نمونه‌گیری از پرزهای جفتی (CVS) می‌باشد. اگر CVS در دسترس نباشد، از آمنیوسنتز در هفته ۱۵ به بعد استفاده می‌شود.

اگر بیماری CVS و آمنیوسنتز را نپذیرد، می‌تواند تست غربالگری cell free DNA را انتخاب نماید که حساسیت و ویژگی بالایی دارد و اگر این تست منفی شود، فرد می‌تواند ریسک انجام روش‌های تهاجمی را قبول ننماید ولی در صورت مثبت شدن cell-free DNA باز نیاز به تست تشخیصی تهاجمی برای اثبات وجود دارد، یعنی همان CVS یا آمنیوسنتز.

نتایج تست غربالگری مثبت یکپارچه (Integrated)

Cut-off برای غربالگری مثبت در تست یکپارچه اغلب بالاتر از تست ترکیبی سه ماهه اول و تست چهارگانه سه ماهه دوم می‌باشد چون میزان مثبت کاذب پایین دارد و میزان تشخیص یا همان Detection rate (DR) بالایی دارد. یک Cut-off تیبیک برای تست یکپارچه، یک ریسک سندرم داون کوچکتر یا مساوی یک صدم می‌باشد و میزان مثبت کاذب ۱ تا ۲ درصد دارد.

در این صورت نیز، در صورت مثبت شدن غربالگری، مشاوره‌ی ژنتیک و انجام آمنیوسنتز پیشنهاد می‌گردد و افراد در صورت عدم پذیرش آمنیوسنتز مکنت Cell-Free DNA را انتخاب نمایند.

تعیین و تشخیص تریزومی ۱۸

تریزومی ۱۸ در حدود ۱ در ۶۰۰۰ تولد رخ می‌دهد و در سنین بالاتر مادر بیشتر است. ۹۵٪ نوزادان درگیر در سال اول تولد می‌میرند و ۵۰٪ در عرض یک هفته اول می‌میرند.

تست ترکیبی سه ماهه‌ی اول

در سه ماهه‌ی اول الگوی آنالیت‌های سرمی مادر برای تریزومی ۱۸ به صورت زیر می‌باشد:

۱. میزان β -hCG خیلی پایین

۲. میزان PAPP-A خیلی پایین

۳. NT بالا

پرزهای جفتی (CVS) انجام دهد. زنانی که در گروه خیلی پرخطر قرار نمی‌گیرند، نتایج مرحله‌ی اول را دریافت نمی‌کنند و غربالگری بخش دوم درخواست می‌شود. در این روش میزان تشخیص (DR) برای سندرم داون ۹۵٪ با میزان مثبت کاذب ۵٪ می‌باشد.

روش پلکانی مشروط یا تصادفی (Contingent sequential) بر اساس نتیجه تست ترکیبی سه ماهه اول خانم‌ها به گروه‌های پرخطر، خطر متوسط (Intermediate) و کم خطر تقسیم می‌شوند. برای گروه پرخطر تست تشخیصی پیشنهاد می‌شود و برای گروه متوسط، انجام تست چهارگانه (سه ماهه دوم) درخواست می‌گردد و برای گروه کم خطر هم تست بیشتری انجام نمی‌شود.

سطح کارایی تست (Test Performance)

تست یکپارچه، کارآمدترین تست غربالگری آنوپلوئیدی می‌باشد و میزان تشخیص (DR) بالا و میزان مثبت کاذب پایین دارد.

تست پلکانی یا Step-wise Sequential یک نوع تست یکپارچه می‌باشد و تقریباً کارایی آن را دارد که نتایج افراد خیلی پرخطر را در سه ماهه‌ی اول گزارش می‌کند. در خانم‌هایی که دیر مراجعه می‌کنند و در سه ماهه دوم هستند، تست چهارگانه Quadruplex در دسترس‌ترین پیشنهاد است.

تشخیص هیگرومای سیستمیک در سونوگرافی تقریباً با ریسک ۵۰٪ برای آنوپلوئیدی همراه است و $NT \leq 3mm$ با ۱۷٪ ریسک آنوپلوئیدی همراه است و در این دو مورد تست تشخیصی پیشنهاد می‌شود.

تست غربالگری مثبت برای تست ترکیبی سه ماهه‌ی اول

در این تست وقتی گزارش می‌شود، ریسک سندرم داون ۱ در ۹۰ است به این معنی است که در بین یک گروه ۹۰ نفر زن با این تست، یک نفر یک جنین با سندرم داون خواهد داشت در حالی که ۸۹ نفر باقیمانده از نظر سندرم داون منفی می‌باشند.

یک تست با نتیجه‌گیری غربالگری مثبت نشان می‌دهد که ریسک خانمی برای داشتن یک فرزند با سندرم داون $\leq$ یک cut-off می‌باشد که بر اساس ترکیب مارک‌های استفاده شده، توسط آزمایشگاه از قبل تعیین می‌گردد.

بعد از یک تست غربالگری مثبت، بهتر است که یک ملاقات مشاوره ژنتیک با والدین داشته باشیم و نتایج را همراه با توضیح حق انتخاب‌های

تست یکپارچه

با استفاده از ۴ مارکر PAPP-A در سه ماهه‌ی اول β -hCG و AFP و UE3 در سه ماهه‌ی دوم در ترکیب با سن مادر ۹۰٪ موارد تریزومی ۱۸ تشخیص داده می‌شود که با میزان مثبت کاذب ۰/۱٪ می‌باشد و با افزودن NT به این الگوریتم، کارایی تست بالاتر می‌باشد.

نتایج تست غربالگری مثبت برای تریزومی ۱۸

مانند سندرم داون در اینجا نیز در صورت مثبت شدن غربالگری مثبت برای تریزومی ۱۸ باید مشاوره ژنتیک انجام شود و تست تشخیصی نه‌اجمی یعنی CVS یا آمنیوسنتز پیشنهاد گردد.

پیشگویی عوارض ناخواسته حاملگی

تست غربالگری مادری برای سندرم داون، همچنین عوارض حاملگی را می‌تواند پیشگویی نماید؛ ولی میزان پیشگویی این تست‌ها پایین است و تحقیقات بعدی لازم است تا مشخص نماید آیا این تست‌ها در پیشگویی عوارض حاملگی باعث بهبود نتایج و سرانجام (Out Come) بارداری می‌گردد یا نه؟

نتیجه‌گیری

۱. تست ترکیبی برای غربالگری سندرم داون مرکب از سونوگرافی برای اندازه‌گیری NT و بررسی سرم مادر از نظر β -hCG و PAPP-A می‌باشد که عموماً در هفته ۱۱ تا ۱۳+۶ انجام می‌شود. این تست ۸۵٪

سندرم داون را تشخیص می‌دهد و ۵٪ میزان مثبت کاذب دارد و کمی بیشتر از تست چهارگانه‌ی سه ماهه‌ی دوم کارآمد (Efficient) می‌باشد. یعنی میزان تشخیص یا Detection کمی بیشتر و میزان مثبت کاذب کمتر دارد.

۲. تست یکپارچه کامل: شامل NT در سه ماهه اول و PAPP-A و تست چهارگانه در سه ماهه‌ی دوم است. ۸۵٪ جنین‌های با سندرم داون را با میزان مثبت کاذب ۱٪ تشخیص می‌دهد.

۳. تست یکپارچه Sequenpial به تعداد زیادی از موارد سندرم داون اجازه می‌دهد که در سه ماهه اول تشخیص داده شوند، در حالی که تنها یک کاهش کمی در کارایی خواهد داشت.

۴. اگر در جاهایی که NT در دسترس نباشد، تست یکپارچه موثرتر از تست چهارگانه می‌باشد.

۵. در خانم‌هایی که با هر تست غربالگری، جواب مثبت شود باید برای انتخاب تست نه‌اجمی یعنی CVS یا آمنیوسنتز ارجاع شوند در صورت عدم پذیرش می‌توان تست غربالگری دیگر با قدرت تشخیصی بالا یعنی Cell free DNA را پیشنهاد داد.

۶. زنانی که غربالگری سه ماهه اول را انتخاب می‌کنند باید برای غربالگری نقص لوله‌ی عصبی (NTD) در سه ماهه دوم ارجاع شوند که همان اندازه‌گیری AFD بعد از ۱۵ هفته می‌باشد.

۷. تست یکپارچه و ترکیبی همچنین در تشخیص جنین‌های در ریسک بالای تریزومی ۱۸ موثر است.