AUMJ
Alborz University of Medical Sciences
نشریه دانشگاه علوم پزشکی البرز، زمستان ۱۳۹۷، سال ۸، شماره ۱، صفحه‌های ۱-۱۰
مقاله مروری

تست‌های غیر تهاجمی پیش از تولد: جنبه‌های جدیدی در پزشکی شخصی قبل از تولد

فاطمه منصوری[1و2*]

[1] گروه ژنتیک و ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران
[2] مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۹۶/۶/۱۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۲/۱۶

چکیده

آثار اخیر کشف کرده اند که تمرکز بر تشخیص قبل از تولد در حال حاضر روش جدیدی برای تجزیه و تحلیل دقیق تر ژنتیک و ژنومیک جنین گشوده است. تکنیک‌های تشخیصی غیر تهاجمی ابزاری ایمن و موثر هستند که می‌توانند درک بیشتری از رشد و نمو جنین، اختلالات ژنتیکی جنین و رویکردهای جدیدی برای درمان فراهم کنند. شواهدی در حال افزایش است که ارزیابی جنین با استفاده از تجزیه و تحلیل‌های ترانسکریپتوم های جنینی مانند DNA آزاد و مولکول‌های RNA آزاد در خون مادری بیومارکرهای حیاتی برای تشخیص‌های قبل از تولد هستند. ترانسکریپتوم ها به طور پایدار در مایع آمنیوتیک و خون خانم‌های باردار وجود دارد و تعداد افزایشی این مولکول‌ها به صورت بیومارکرها در بیماری‌های مختلف و در هر مرحله حاملگی میتواند بررسی شود. اهداف این مقاله: I) بررسی پیشرفت‌های آزمایش‌های مولکولی برای تجزیه و تحلیل مراحل رشد و نمو جنین برای تشخیص پیش از تولد است. II) خلاصه‌ای از کاربرد و انواع مواد ژنتیکی برای استفاده در پزشکی شخصی ارائه داده شده است.
بنابراین تجزیه و تحلیل ترانسکریپتوم‌ها بر برخی از محدودیت‌های روش‌های فعلی کمک خواهد کرد تا با انجام آزمایشاتی با کیفیت و ایمن منجر به کاهش روش‌های تهاجمی و سقط جنین شود.

کلمات کلیدی: تست‌های قبل از تولد، پزشکی شخصی، روش غیر تهاجمی

***نویسنده مسئول:**
گروه ژنتیک و ایمونولوژی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران
۰۹۱۲-۳۷۰۴۱۵۳
E-mail: mansouri1600@hotmail.com

مقدمه

هدف پزشکی شخصی بهبود و بهینه سازی سلامت و گسترش درمان‌ها بر اساس ترکیب ژنتیک و داده‌های ژنتیکی شخص همراه با اطلاعاتی در مورد سبک زندگی و محیط پیرامون یک فرد می‌باشد. تاکنون پزشکی شخصی بر روی پیشگیری و درمان در شرایط موثر برای برخی بیماریها مثل سرطان‌ها و بیماری‌های قلبی-عروقی متمرکز شده است. تعداد کمی از مطالعات گذشته در حیطه درمانی براساس ژنتیک فرد بوده است. تحول‌های عظیمی همچون پیشرفت در روش‌های تشخیص‌های پیش از زایمان باعث شده که برنامه‌های غربالگری پیش از تولد گسترده شود که این با موفقیت در سراسر جهان در حال توسعه و گسترش است.[۱] این طور می‌توان استدلال کرد که بررسی پزشکی شخصی بهترین و بیشترین فایده را در کل دوره زندگی شخصی یک فرد دارد در صورتی که این بررسی‌ها در رحم یا قبل از تولد شروع شود.

برای مثال درتشخیص پیش از تولد سندروم داون، استاندارد تشخیصی فعلی شامل یک روش دو مرحله‌ای می‌باشد. در این مورد غربالگری سرم و اندازه گیری ضخامت چین گردن و روش‌های تهاجمی نظیر آمنیوسنتز یا نمونه برداری از پرزهای جفتی جهت غربال کردن خانم‌هایی که به شکل مثبت تست آنها گزارش شده پیشنهاد می‌شود. در تشخیص‌های قبل از تولد جنین ممکن است از روش‌های تهاجمی مانند آمنیوسنتز یا نمونه پرزهای جفت مقداری نمونه را از خون مادر بدست آورد که این تکنیک‌ها روش تشخیصی دقیقی هستند.[۲] این تکنیک‌ها نیاز به متخصص زنان و زایمان دارند و می توانند از سقط جنین جلوگیری نمایند. تشخیص‌های سیتوژنتیک بررسی کروموزوم های متافازی در زیر میکروسکوپ است. ولی اشکال این روش کشت کروموزوم ها، زمانبر بودن پروسه کشت ، عدم تشخیص و بررسی ریز حذف‌ها و عدم تشخیص تغییرات تعدادی کروموزوم‌ها است. در حالی که در آنالیز متافازی کروموزومی با استفاده از روش های رنگ آمیزی در کروموزوم ها ۵-۱۰ مگا جفت باز باید تغییرات حذف یا مضاعف سازی داشته باشند تا قابل تشخیص باشند.[۲و۳]

روش دیگر استفاده از تکنولوژی میکروآری است که مزیتهای بیشتری دارد. به عبارتی حساسیت بیشتر در بررسی حذف ها، مضاعف شدگی ها، جا به جایی‌های نامتعادل کروموزومی، جدا سازی کروموزوم در زمان کوتاهتر و با سرعت بیشتر و عدم نیاز به کشت سلولی از جمله این مزیت هاست. امروزه طراحی انواع اری بسیار مهم است. در میکروآری کروموزومی با استفاده از روش های تفکیک بالا (High resolution techniques) تغییرات ۱۰۰-۵۰ کیلو جفت قابل تشخیص است[۴] اما این روش قادر به تشخیص جا به جایی های متعادل کروموزومی یا تشخیص تریپلوئیدی نمی باشد.

کروموزوم‌های مصنوعی باکتری و الیگونوکلئوتیدهای طراحی شده علی رغم اینکه قسمت‌های کمتر ولی خاص از ژنوم را تحت پوشش قرار می دهد، برای بررسی ناهنجاری‌های کروموزومی شناخته شده مانند بررسی عقب ماندگی‌ها بسیار کاربردی است.[۵] همچنین پیشرفت در شناخت فیزیولوژی جنین نرمال وغیر نرمال با استفاده از آرایه‌های بیان ژن، شواهدی را ارائه می‌کند که می‌توانیم روش‌های جدیدی برای بکارگیری روش درمانی شخصی برای جنین داشته باشیم.[۵]

اما روش‌های غیر تهاجمی مانند ارزیابی جنین از طریق DNA و RNA مولکولی مورد توجه همگان است و خون گرفته شده از رگ و یا ادرار مادر هیچ خطری برای جنین ندارد.[۶] خون مادر شامل توالی DNA و RNA مادر و جنین است که باعث افزایش پیچیدگی و حساسیت آزمایشات می‌شود. تجزیه و تحلیل transcription maternal به تشخیص قبل از تولد منجر می‌شود که یک تحلیل کاملا دقیق از جنین و جفت فراهم می‌کند.[۷] بررسی‌ها نشان داده که وجود مارکرهای ویژه سلولهای توموری در خون و یا ادرار افراد نیز قابل تشخیص و بررسی است.[۸] اما آگاهی از پیشرفت رشد جنین توسط توالی DNA و RNA جنینی یک فرصت جدید درمانی پدیدار خواهد کرد. اکنون با استفاده از حوزه ژنتیک قبل از تولد و با در نظر گرفتن ملاحظات عملی و اخلاقی مطرح شده میتوان از این فن آوری بهره جست.[۹] از اینرو اطلاعات ژنتیکی و ژنومیکی جنینی در مدیریت بارداری بعدی تاثیر گذاشته و نیاز به روشهای سیتوژنتیک تهاجمی یا مدیریت استروئیدها یا فراورده‌های خونی برای زن باردار را کاهش میدهد. علاوه بر این، یک فرصت بسیار خوبی به مصرف کننده ارائه می دهد و انجام آزمایش مرتبط در بسیاری از زنان باردار به طور موثر و اجباری که متخصصان چند

رشته در آن بحث و تبادل نظر می‌کنند، منافع تجاری زیادی برای سیستم‌های مراقبت‌های بهداشتی خواهد داشت.[۱۰]

بررسی اختلالات مرتبط با جنسیت جنین با استفاده از روش غیر تهاجمی

تکثیر DNA های بدون سلول یا DNA آزاد در خون مادر به عنوان یک جایگزین غیر تهاجمی جهت تشخیص‌های سیتوژنتیک بعد از یک روش تهاجمی جهت تعیین جنسیت جنین استفاده می شود . چنین تست‌های تشخیصی زمانی توصیه می‌شوند که اطلاعاتی از جنسیت جنین برای بررسی توارث‌های X-linked مورد نیاز باشد، یا ابهام در شناسایی اندام‌های تناسلی توسط سونوگرافی وجود داشته باشد. علاوه بر این، دانستن جنسیت جنین در تعیین اینکه کدام خانم برای جلوگیری از مردانه شدن جنین مونث به استروئید نیاز دارد کمک بسیار زیادی می‌کند. از طرفی تشخیص قبل از تولد جنین‌ها برای تریزومی ۲۱ یک هدف عمده برنامه‌های غربالگری در کشورهای توسعه یافته است.

با توجه به اینکه امروزه در بسیاری از مراکز تست‌های تشخیصی غیر تهاجمی قبل از تولد (Non-invasive prenatal testing=NIPT) انجام میشود و با این روش جنسیت جنین و ژنوتایپ RHD را می‌تواند با استفاده از تکنیک Real-time PCR تشخیص داد، اما شناسایی جنین تریزومی ۲۱ با استفاده از پلاسمای مادر بسیار پیچیده‌تر است چون هیچ توالی ژنی جنینی منحصر به فردی برای شناسایی وجود ندارد.

در دو دهه گذشته تلاش‌های متعددی برای یافتن سلول‌های جنینی در خون مادر مانند Cell free DNA یاCell Free RNA در راستای تشخیص‌های غیر تهاجمی سندروم داون صورت گرفته اند.[۱۱] پیشرفت در تکنیک‌های مدرن تر مثل Digital PCR منجر به این قابلیت شد که مقدار اسیدهای نوکلئیک در نمونه مادر با شمردن مولکول‌های تکثیر یافته به صورت تکی مشخص و معلوم شود. PCR دیجیتالی جهت شناسایی انواع آنوپلوئیدی با استفاده از Cell Free RNA یا Cell free DNA بکار می‌رود.[۱۲و۱۳]

در مقایسه با تشخیص قبل از تولد سندروم داون، تشخیص سایر آنوپلوئیدی‌های جنینی معمول مانند تریزومی های ۱۳و ۱۸ بسیار چالش برانگیز است، چون دقت تشخیص آنوپلوئیدی تحت تأثیر محتوی GC کروموزمهای فرد است. در حالی که کروموزوم ۲۱ دارای یک درصد متوسط از محتوای GC است، کروموزوم های ۱۸ و ۱۳ درصد GC پایینتری دارند، که ضریب تغییرات این کروموزوم ها را افزایش میدهد. برای تصحیح و اصلاح کمی محتوای خاصGC در توالی داده‌ها از ضریب Z-score استفاده می کنند که باعث بهبود حساسیت و ویژگی های خاص در تشخیص تریزومی های ۱۳و ۱۸ می‌شود.[۱۴-۱۶]

اکثریت عمده سلول های Cell free DNA در گردش خون مادران از سلول های آپوپتوتیک هماتوپوئیتیک با حداکثر اندازه bp ۱۶۹-۱۶۲ بوده اند.[۱۷] در گردش خون، DNA دو رشته‌ای بصورت نوکلئوزوم بسته بندی شده است که یک قطعه ۲۰ نوکلئوتیدی آن را به قسمت مرکزی متصل می‌کند.[۱۷] اما DNA جنین که از جفت منشا گرفته است دارای bp ۱۴۳ است.[۱۸] لذا اندازه DNA مادر و DNA جنین با هم متفاوت است[۱۹] چون در DNA جنین، قطعه پیوند دهنده از نوکلئوزوم جدا شده است. مقدار متوسط Cell free DNA جنین در گردش در پلاسمای مادر برابر با ۱۰٪ است.[۲۰]

پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (Single nucleotide polymorphism=SNP) نیز نشان میدهد که ژنوم کامل جنین در پلاسمای مادر وجود دارد و نسبت توالی مادر به توالی جنین ثابت است. این امر بدان معنی است که از لحاظ نظری امکان بررسی غیر تهاجمی خون مادر برای تعداد نسخه‌های کپی شده از جنین و اختلالات جنینی تک ژنی و پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی وجود دارد.[۱۷]

تشخیص پیش از تولد آنوپلوئیدی‌ها با استفاده از پلاسمای مادر امکان پذیر است، زیرا میتوان با اتصال یک برچسب (Tag) به توالی‌ها و mapping آنها براساس کروموزوم های بالینی تمام ناهنجاری‌ها را شمارش کرد. تشخیص‌های قبل از تولد غیر تهاجمی در بررسی بیماریهای تک ژنی مغلوب و توارث وابسته به X که مادر و جنین دارای همان نوع موتاسیون هستند بسیار مهم است.[۲۰]

پیشرفت‌هایی در تجزیه و تحلیل ترانسکریپتوم‌های جنین

بررسی فرآیند طبیعی رشد جنین، به ویژه بررسی دقیق تر جنین نرمال از جنین غیر نرمال میتواند از طریق بررسی‌های

ترانسکریپتوم‌های جنینی انجام شود، به ویژه زمانی که در سونوگرافی جنین نرمال گزارش شده است. برخلاف DNA جنین که در پلاسمای مادر بطور مداوم افزایش می‌یابد و با پیشرفت بارداری میزان بیشتری ترشح می‌گردد، سطح RNA جنین بیشتر متغیر است که در واقع بیان کننده تغییرات رشد و نمو جنین در هر مرحله است.

یافته‌ها نشان می‌دهد که توالی mRNA مربوط به کروموزوم y جنین میتواند در گردش خون مادر علیرغم حضور RNaseها کامل باقی بماند.[۲۱] کارهای بعدی نشان داد که قطعه‌های mRNA جنین در پلاسمای مادر نسبتاً پایدارند[۲۲] و احتمالاً به خاطر این است که این mRNA در apoptotic bodies هستند که در گردش خون از تخریب آنی آنها جلوگیری می‌شود. جالب توجه است که ترانسکریپتوم هایی که از جفت منشا گرفته اند به راحتی در پلاسمای مادر قابل کشف اند در حالی که ترانسکریپتوم هایی که از جنین منشا گرفته اند در خون کامل مادر (whole blood) یافت می‌شوند.[۲۳]

در یک مطالعه، تجزیه و تحلیل میکروآرای‌ها انجام شد تا ترانسکریپت‌های یافته شده در خون مادر بلافاصله پس از زایمان و بین ۲۴ تا ۳۶ ساعت پس از تولد نوزاد با استفاده از بند ناف به مقایسه و شناسایی بیومارکرهای خون جنین پرداخته شود. توالی‌ها در هر دو نوع خون مادر بلافاصله پس از زایمان و خون نوزاد به وضوح بیان بالایی را نشان داده بودند. در این روش اکثریت ترانسکریپت‌های یافت شده از جنین در گردش خون سه ماهه آخر مادر مربوط به سیستم‌های بینایی، رشد سیستم عصبی مرکزی، حس بویایی و توانایی پاسخ به التهاب است. شناسایی سیستم‌های خاص فعال در هر سه ماهه بارداری برای بررسی سلامت جنین مهم است و چنین بررسی‌هایی میتواند به بررسی الگوهای بیان ژنها در هر مرحله از بارداری برای تشخیص جنین آنرمال کمک کند. مثلا مشخص شده که ۱۰ درصد از ترانسکریپت‌های ماه های آخر موجود و فعال در خون مربوط به توسعه پاسخ‌های ایمنی هستند. مطالعه ژن های خاص به طور معمول در جنین قبل از تولد زود هنگام و در بررسی بدخیمی‌ها انجام شده است و روش‌های مختلف مبنی بر RT-PCR برای بررسی بیان ژن‌ها به کار رفته است.[۲۴] این روش ها، احتمال ردیابی الگوهای غیرطبیعی بیان ژن و شناسایی جنین با خطر تأخیر رشد را فراهم می‌کند.

یکی دیگر از زمینه‌های پژوهشی بررسی میکرو RNAهای جفت (microRNA) در پلاسمای مادر است. microRNAها حدود ۱۹ تا ۲۴ نوکلئوتید دارند و مولکول های تک رشته‌ای RNA هستند که با اتصال به نواحی '3 بیان پروتئین مورد هدف را سرکوب می‌کنند.[۸] از آن جایی که در پلاسما تا حد قابل ملاحظه‌ای پایدار هستند miRNA تحت نشان گرهای زیستی خاص مورد ارزیابی قرار می گیرد. تاکنون حدود ۴۰ نوع miRNA اختصاصی مربوط به جفت شناسایی شده اند. MiRNA ها در گردش خون در ارتباط بین مادر و جنین نقش عملکردی در توسعه ایمنی دارند.[۲۵و۲۶]

تحقیقات مربوط به جنین با استفاده از خون مادر محدود است چون اکثر آنها منشاء مادری دارند. در سال ۲۰۰۵ Larrabee و همکاران، مایع آمنیوتیک را به عنوان منبع مهمی از اطلاعات بیان ژن فرض کرده اند که توانسته است داده‌های زیادی رادر توسعه دانش انسانی ارائه دهد. در اثبات اولیه این مفهوم، RNA آزاد (بدون سلول) درخون و در مایع آمنیوتیک زنان باردار در سه ماهه دوم یا سوم برای تجزیه و تحلیل سندرم انتقال خون دوقلوها (TTTS = Twin-to-twin transfusion syndrome) و بررسی‌های هیدروپس فتالیس (Hydrops fetalis) به کار رفته است.[۲۷] نتایج نشان میدهد که بیان این ژنها تحت تأثیر سن حاملگی و جنسیت جنین است.[۲۸] به عنوان مثال ژن های کد کننده پروتئین موسین معده و بزاق، پروتئین سورفکتانت (C, A2, B) و استاترین (statherin) (پروتئینی که در ترشح بزاق و تشکیل استخوان نقش دارد) همگی به عنوان تابعی از سن حاملگی در نظر گرفته می‌شود. برعکس بیان ژن کراتین با سن حاملگی کاهش می‌یابد که احتمالا نشان دهنده کاهش تماس بین سلول‌های تولید کننده کراتین و مایع آمنیوتیک به عنوان بلوغ پوست جنین است. برخی ژنها در هنگام بیماری افزایش می‌یابند، برای مثال(*AQP1*) aquaporin1 در سندروم (Twin-to-twin transfusion syndrome=TTTS) افزایش می‌یابد.[۳]

برخی ژنها در مایع آمنیوتیک در جنین‌های دارای تریزومی ۲۱و ۱۸ در مقایسه با جنین‌های سالم که دارای همان سن و جنس بودند مقایسه شده اند.[۲۹] شواهد قوی مبنی بر بررسی‌های سیتوژنتیک جنین‌های دارای آنوپلوییدی ارائه شده است که تا حد زیادی ناشی از فرآیندهای پیچیده در اثر وجود کروموزوم های اضافی است.

تجزیه و تحلیل‌های عملکردی نشان می دهد که هر آنوپلوئیدی دارای ترانسکریپت‌های خاص و ژن های منحصر به فرد است.

در جنین‌های مبتلا به سندروم داون فشار اکسیداتیو، انتقال یون و سیگنالینگ G پروتئین باعث ایجاد ناهنجاریهایی می‌شود. پاسخ به فشار اکسیداتیو در بزرگسالان سندروم داون مورد بررسی قرار گرفته است. این مطالعه برای اولین بار نشان میدهد که ابتلای جنین مبتلا به سندروم داون با استرس سلولی و اختلال انتقال یونی و فشار اکسیداتیو ارتباط دارد.[۳۰] برای شناسایی پروسه دخیل در سندروم داون از فنوتیپ مولکولی معکوس استفاده شد که این بررسی میتواند برای درمان قبل از تولد به کار برده شود. کشت اولیه آمنیوسیت و تروفوبلاست به عنوان منبعی از mRNA در تریزومی‌های اتوزومی در نظر گرفته می‌شود. همیشه این احتمال وجود دارد که کشت سلولی منجر به تغییرات مصنوعی بیان ژن شود. از این مطالعات نتیجه گرفته شده که قسمتی از فنوتیپ سندروم داون ناشی ازتغییرات ژن‌های روی کروموزوم ۲۱ است و قسمتی دیگر ناشی از اختلالاتی که در مسیرهای ژنی دیگر رخ داده است. جالب اینجاست که در تروفوبلاست تغییر بیان ژن‌هایی که در چرخه یوبی کوئیتین نقش دارند یکی از بزرگترین عوامل ایجاد کننده تریزومی ۲۱ است. بدین ترتیب مکانیسم‌های اپی ژنتیک در post-transcriptional modification از طریق یوبی کوئیتینه شدن ژنها نقش دارد.[۳۱]

در جنین‌های تریزومی ۱۸ ژن‌های درگیر در رشد آدرنال به طور قابل توجهی کاهش یافته است که میتواند غلظت‌های پایین استریول در سرم مادر و محدودیت رشد پیش از تولد و پس از تولد مشاهده شده در جنین‌ها و نوزادان را توضیح دهد.

بررسی‌های دیگر نشان داد با توجه به اینکه بیماری قلبی مادرزادی مشکل عمده‌ای در جنین‌های تریزومی ۱۸ است به ویژه، Rho-associated kinase 1 (ROCK1) ژنی که در روی کروموزوم ۱۸ قرار دارد، به طور قابل توجهی در جنین‌های دارای تریزومی ۱۸ بیشتر بیان شده است. قبل از این مطالعه، ROCK1 شناخته شده نبود، اما با بررسی تریزومی ۱۸ مشخص شد که ROCK1 دارای نقش کلیدی در تنظیم تمایز سلول‌های اندوکرینی و مهاجرت و رشد اولیه سلول های قلب دارد. همچنین این یکی از تنها شش ژنی است که در هر دو تریزومی ۱۸ و ۲۱ در مقایسه با کنترل‌های سالم نقش آن مشخص شده است.

علاوه بر بررسی ترانسکریپت‌های مایع آمنیوتیک جنین‌های آنوپلوئید، ترانسکریپت‌های مایع آمنیوتیک جنین‌های سالم نیز تحلیل شده است. ۴۷۶۰ ژن به خوبی در سه ماهه دوم تشریح شده‌اند که در نمونه‌های مایع آمنیوتیک بیان شده است. ۲۳ ترانسکریپت در ارگان های خاص گزارش شده اند که ۶ ترانسکریپت آن مربوط به مغز جنین است و سایر ترانسکریپت‌ها در ریه، پوست، تیروئید، پانکراس، فوق کلیه، کبد و جفت بررسی شده‌اند. یافته‌های جدید منجر به شناسایی rapamycin (mTOR) پستانداران گردید که به عنوان یک تنظیم کننده مرکزی رشد سلول و به عنوان بخشی از مسیر رشد جنین شناخته شده است.

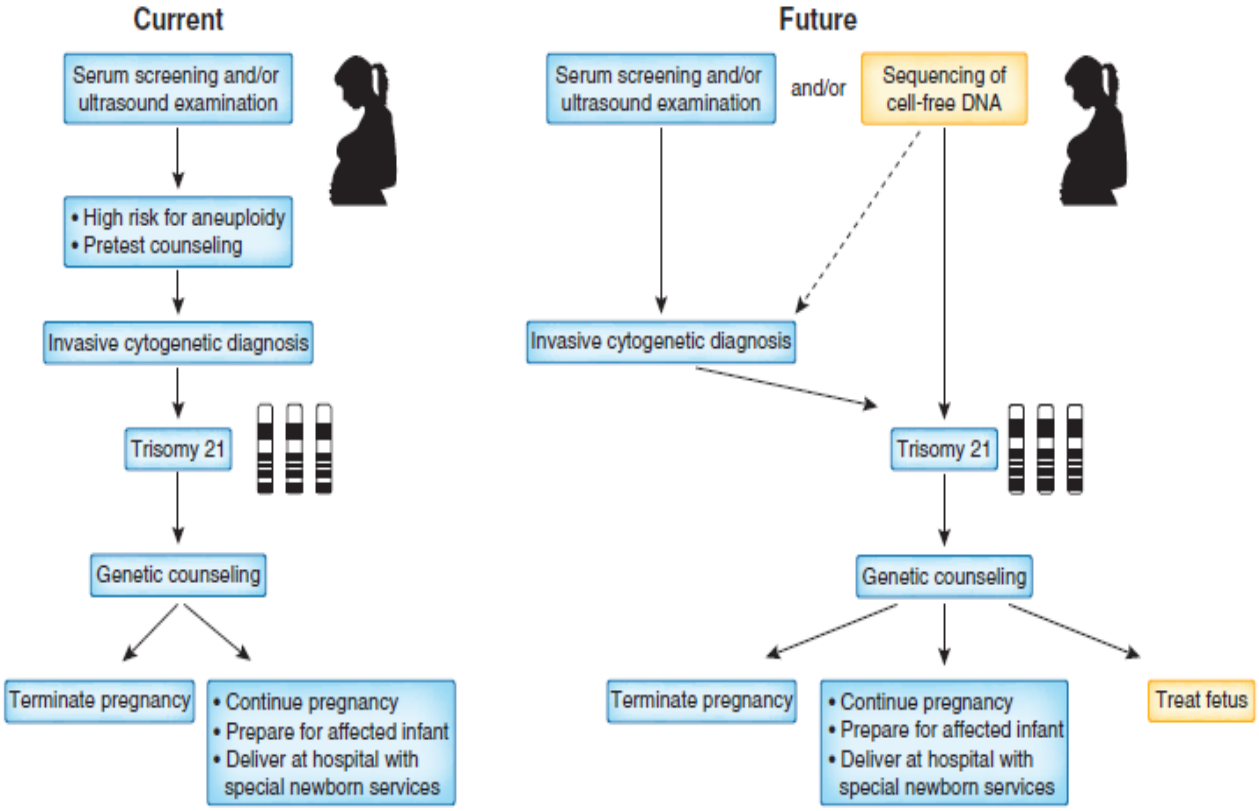
تجزیه و تحلیل ترانسکریپت‌های شایع در بارداری‌های پرخطر

بررسی‌های بعدی مربوط به ترانسکریپت خاصی است که در بارداری در خون مادر به عنوان مارکرهای خاص زیستی شرایطی را فراهم کرده است که به شناسایی عوارض بارداری می‌پردازد.[۳۲و۳۳] به عنوان مثال، تنظیم مقادیر گنادوتروپین کوریونی انسان β subunit، لاکتوژن جفتی انسانی (human placental lactogen) و نسخه هورمون آزاد کننده کورتیکوتروپین (corticotrophin-releasing hormone) بیومارکرهای بالقوه در خون زنان مبتلا به پره اکلامپسی بودند.[۳۳و۳۴] همچنین KYNU ، که در پره اکلامپسی نقش آن مشخص شده است، کد کننده kynureninase است که آنزیمی است که نقش کلیدی در متابولیسم تریپتوفان دارد. این آنزیم متابولیزه کننده l-kynurenine است که مانع تکثیر سلولهای T و natural killer cells می‌شود و نقش مهمی در پاتوژنز پره اکلامپسی دارد.

سایر سیگنالینگ های سلولی که در ایجاد پره اکلامپسی نقش دارد شامل: لینولیک، اسید چرب و متابولیت های آراشیدونیک و استرس اکسیداتیو به واسطه فاکتور ۲ تنفسی است.

برخی از این ژن ها در تولید پراکسید هیدروژن نقش دارد که منجر به از بین رفتن پراکسیداسیون چربی می شود. این تفاوت در میان فاکتورهای مختلف باعث فعال شدن اندوتلیوم مادر و در نتیجه ضایعات آترواسکلروتیک میشود که باعث التهاب سیستماتیک و ایجاد پره اکلامپسی می گردد.[۳۵]

از ترانسکریپت‌های جفت برای درک فرآینـدهای بیولـوژیکی و کلیدی در جنین مانند بررسی محدودیت رشد جنین در داخل رحـم (IUGR= intrauterine growth restriction) استفاده مـی شـود کـه کاهش رشد در جنین را نشان میدهد. در واقع بـین جفـت نرمـال و IUGR تفاوت وجود دارد که نشان دهنده تفاوت هـای اپـی ژنتیـک است که نقـش جزئـی در پـاتوژنز IUGR دارد.[۳۶] تجزیـه و تحلیـل ژن‌های تنظیم شده در رشد جنین نشان میدهد که جفت تأثیر عوامل مختلف ملتهب می‌شود که با کموکاین و سایتوکاین‌هـای مسـیرهای سیگنالینگ در ارتبـاط اسـت. بـه عـلاوه hydroxysteroid (11-β) dehydrogenase 1 در IUGR نقش دارد، این آنزیم نقش مهمی در بازسـازی کـورتیزول از کـورتیزون دارد کـه باعـث افـزایش اثـر گلوکوکورتیکوئیدها بر تولید سورفاکتانت ریوی میشود. این امـر در ریه نوزدان با رشد محدود درهنگام بارداری قابل تشخیص است.



شکل ۱: روش‌های تشخیصی کنونی و آینده در سندروم داون. مقایسه روش دو مرحله‌ای فعلی برای تشخیص غیرتهـاجمی تریزومـی جنینـی ۲۱ بدون گزینه‌های درمانی جنینی و روش آتی محتمل که با استفاده از DNA پلاسمای مادر ممکن است نیاز به تست تهاجمی را حذف نماید. علاوه براین، پیشرفت‌ها در بررسی رونوشت جنینی ممکن است درمان‌های جدیدی را شناسایی کند که بتواند بـرای زنـان بـاردار بـه محـض تشـخیص استفاده شود.[۲و۳]

نتیجه و بحث

امروزه چالش هایی برای تشخیص قبل از تولد وجود دارد و همان طور که به آن اشاره شد در سال های گذشته مطالعات بالینی زیادی در این مورد انجام شده است. ملاحظات عمده آنها مربوط به مراقبتهای معمول زنان در هنگام زایمان است که از جمله آموزش، هزینه و مسائل اخلاقی باید در نظر گرفته شود. یک جنبه ضروری آموزش است که بدون شک در بهبود مطالعات ژنومی به خصوص برای ارائه دهندگان خدمات و مراقبت های بهداشتی بسیار موثر خواهد بود.

این امر به ویژه برای زنان به دلیل دسترسی گسترده به تست های قبل از بارداری و ایجاد رفاه برای جنین دارای اهمیت بیشتری است. بررسی کروموزوم های متافازی در زیر میکروسکوپ مانند روش سیتوژنتیک دارای اشکالاتی است. بررسی‌ها نشان داده که وجود قطعاتی از DNA انگل توکسوپلاسما که خطر بسیار زیادی برای جنین دارد[۳۷] در خون و یا ادرار مادر با این روش ها قابل تشخیص و بررسی است.[۶] آزمایش مستقیم یافته‌های غیر طبیعی را برای جنین نشان میدهد که با مراجعه به متخصص زنان میتوان آنها را پیگیری کرد. بنابراین لازم است متخصصان زنان و زایمان به طور خاص آموزش های جامع خود در مورد پیشرفت‌های ژنتیک را بروز نگهدارند. بررسی مستقیم کروموزوم های متافازی در زیر میکروسکوپ نیز دارای اشکالاتی است. در ۳۰ سال گذشته، هدف از تشخیص قبل از تولد ارائه انتخابی آگاهانه برای والدین برای ادامه بارداری یا ختم آن و آگاهی آنها بوده است. این الگو اکنون در حال تغییر است و اکنون ما در مرحله‌ای از زمان هستیم که این هدف می‌تواند به ترکیب داده‌های ژنتیک و ژنومیک جهت هموار کردن این راه به یک روش تشخیصی جهت درمان جنین بسط داده شود.[۳۸]

همچنین مراقبت های دوران بارداری از اهمیت بالایی برخوردار است، در اینجا نیاز به دانستن اطلاعات بیشتر درباره بیان ژن عملکردی جنینی به صورت فیزیولوژیکی وجود دارد، برای مثال کدام ژن‌ها باید در مراحل مختلف از بارداری برای بلوغ جنینی نرمال بیان شوند؟ چنانچه ژن‌های کلیدی در تکامل جنین شناسایی شوند، طرح‌های درمانی به صرفه تر و متمرکزتری را می‌توان برای محاسبه یا نظارت عملکرد سیستم ارگان جنینی خاص ایجاد کرد. چنین طرح‌هایی می‌تواند اطلاعات جدیدی را مهیا کند که روش سونوگرافی ناهنجاری های آناتومی جنین را تشخیص می‌دهند، اما سایر ناهنجاری‌ها و ناهنجاری کروموزومی را نمی‌توانند تشخیص دهند. آموزش حرفه‌ای و راهنمایی‌های ترکیب تست‌های ژنتیکی جدید در روش‌های جدید به شکلی اضطراری مورد نیاز هستند. تحلیل‌های اقتصادی در سطح بالایی نیز برای ارزیابی مزایا و محدودیت‌های روش‌های فعلی در مقایسه با سایر روش‌ها مورد نیاز هستند. سازمان‌های بهداشتی و دولتی لازم است که به شکلی فعالانه‌تر از کیفیت و ایمنی این تست‌ها اطمینان حاصل کنند. تیم‌های تحقیقاتی چند رشته‌ای شامل دانشمندان علوم پایه، دانشمندان بالینی، دانشمندان اخلاقی و والدین بایستی به گونه‌ای باشند که استفاده از این تست‌ها را مد نظر قرار دهند . ترانسکریپت‌های جنینی شامل اطلاعات حیاتی و مهمی درباره پیدایش و فیزیولوژی و وضعیت رشد مرحله به مرحله جنین هستند که می‌توانند بدون عارضه مکرراً استخراج شوند بنابراین تحقیقات امروزی بر کاهش هزینه و ارتقای بهره وری روش های تشخیصی‌قبل از تولد متمرکز هستند. روش‌های اخیر شامل غنی سازی غلظت‌های DNA جنینی به وسیله انتخاب توالی هدفمند از نواحی کروموزوم‌های خاص، امکان استفاده از آنتی بادی‌ها برای هیستون H1 برای به هم پیوستن و حذف کردن DNA مادری، immunoprecipitation توالی‌های DNA متیله بعد از تکثیر با روش real-time PCR و استفاده از SNPهای هتروزیگوت جهت محاسبه نسبت‌های هاپلوتیپ بین ژن‌های به ارث برده شده پدری و مادری در پلاسمای مادری می‌باشد که موجب استخراج اطلاعات کافی درباره کاریوتیپ جنینی می‌شود.

References

1. Bianchi DW, Maron JL, Johnson KL. Insights into fetal and neonatal development through analysis of cell-free RNA in body fluids. Early human development. 2010;86(11):747-52.
2. Ashtiani Z, Mansouri F. Overview of medical genetics and common of hearing - speech disorders. Tehran: Nashr Da; 2015.[In Persian]
3. Bianchi DW. From prenatal genomic diagnosis to fetal personalized medicine: progress and challenges. Nature medicine. 2012;18(7):1041-51.
4. Friedman JM. High-resolution array genomic hybridization in prenatal diagnosis. Prenat Diagn. 2009 Jan;29(1):20-8.
5. Maya I, Davidov B, Gershovitz L, Zalzstein Y, Taub E, Coppinger J, et al. Diagnostic utility of array-based comparative genomic hybridization (aCGH) in a prenatal setting. Prenatal diagnosis. 2010;30(12):1131-1137.
6. Asmar M ,Mansouri F, Razavi MR. Urine Sample Used for Congenital Toxoplasmosis Diagnosis by PCR. Infectious Diseases and Tropical Medicine. 2005;9(27):12-18.
7. D'amours G, Kibar Z, Mathonnet G, Fetni R, Tihy F, Desilets V, et al. Whole-genome array CGH identifies pathogenic copy number variations in fetuses with major malformations and a normal karyotype. Clinical genetics. 2012;81(2):128-41.
8. Mansouri F. The role of the clinical and molecular assays in prostate cancer detection. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. 2017;10(6):11-5.
9. Wolfberg AJ. Genes on the web-direct-to-consumer marketing of genetic testing. The New England journal of medicine. 2006;355(6):543.
10. Bianchi DW, Simpson J, Jackson L, Elias S, Holzgreve W, Evans M, et al. Fetal gender and aneuploidy detection using fetal cells in maternal blood: analysis of NIFTY I data. Prenatal diagnosis. 2002;22(7):609-15.
11. Ehrich M, Deciu C, Zwiefelhofer T, Tynan JA, Cagasan L, Tim R, et al. Noninvasive detection of fetal trisomy 21 by sequencing of DNA in maternal blood: a study in a clinical setting. American journal of obstetrics and gynecology. 2011;204(3):205. e1-. e11.
12. Fan HC, Quake SR. Detection of aneuploidy with digital polymerase chain reaction. Analytical chemistry. 2007;79(19):7576-9.
13. Lo YD, Lun FM, Chan KA, Tsui NB, Chong KC, Lau TK, et al. Digital PCR for the molecular detection of fetal chromosomal aneuploidy. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2007;104(32):13116-21.
14. Chiu RW, Akolekar R, Zheng YW, Leung TY, Sun H, Chan KA, et al. Non-invasive prenatal assessment of trisomy 21 by multiplexed maternal plasma DNA sequencing: large scale validity study. Bmj. 2011;342:c7401.
15. Chen EZ, Chiu RW, Sun H, Akolekar R, Chan KA, Leung TY, et al. Noninvasive prenatal diagnosis of fetal trisomy 18 and trisomy 13 by maternal plasma DNA sequencing. PloS one. 2011;6(7):e21791.
16. Palomaki GE, Deciu C, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, Haddow JE, Neveux LM, et al. DNA sequencing of maternal plasma reliably identifies trisomy 18 and trisomy 13 as well as Down syndrome: an international collaborative study. Genetics in medicine. 2012;14(3):296.
17. Lo YD, Chan KA, Sun H, Chen EZ, Jiang P, Lun FM, et al. Maternal plasma DNA sequencing reveals the genome-wide genetic and mutational profile of the fetus. Science translational medicine. 2010;2(61):61ra91-61ra91.
18. Chan KA, Zhang J, Hui AB, Wong N, Lau TK, Leung TN, et al. Size distributions of maternal and fetal DNA in maternal plasma. Clinical Chemistry. 2004;50(1):88-92.
19. Fan HC, Blumenfeld YJ, Chitkara U, Hudgins L, Quake SR. Noninvasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2008;105(42):16266-71.
20. Lun FM, Chiu RW, Chan KA, Leung TY, Lau TK, Lo YD. Microfluidics digital PCR reveals a higher than expected fraction of fetal DNA in maternal plasma. Clinical Chemistry. 2008;54(10):1664-72.
21. Poon LL, Leung TN, Lau TK, Lo YD. Presence of fetal RNA in maternal plasma. Clinical Chemistry. 2000;46(11):1832-4.
22. Tsui NB, Ng EK, Lo YD. Stability of endogenous and added RNA in blood specimens, serum, and plasma. Clinical Chemistry. 2002;48(10):1647-53.
23. Heung MM, Jin S, Tsui NB, Ding C, Leung TY, Lau TK, et al. Placenta-derived fetal specific mRNA is more readily detectable in maternal plasma than in whole blood. PloS one. 2009;4(6):e5858.
24. Savad S, Mehdipour P, Miryounesi M, Shirkoohi R, Fereidooni F, Mansouri F, et al. Expression analysis of MiR-21, MiR-205, and MiR-342 in breast cancer in Iran. Asian Pac J Cancer Prev. 2012;13(3):873-7.
25. Kotlabova K, Doucha J, Hromadnikova I. Placental-specific microRNA in maternal circulation–identification of appropriate pregnancy-associated microRNAs with diagnostic potential. Journal of reproductive immunology. 2011;89(2):185-91.
26. Chim SS, Shing TK, Hung EC, Leung T-y, Lau T-k, Chiu RW, et al. Detection and characterization of placental microRNAs in maternal plasma. Clinical Chemistry. 2008;54(3):482-90.

27. Larrabee PB, Johnson KL, Lai C, Ordovas J, Cowan JM, Tantravahi U, et al. Global gene expression analysis of the living human fetus using cell-free messenger RNA in amniotic fluid. Jama. 2005;293(7):836-42.

28. Slonim DK, Koide K, Johnson KL, Tantravahi U, Cowan JM, Jarrah Z, et al. Functional genomic analysis of amniotic fluid cell-free mRNA suggests that oxidative stress is significant in Down syndrome fetuses. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2009;106(23):9425-9.

29. Koide K, Slonim DK, Johnson KL, Tantravahi U, Cowan JM, Bianchi DW. Transcriptomic analysis of cell-free fetal RNA suggests a specific molecular phenotype in trisomy 18. Human genetics. 2011;129(3):295-305.

30. Zana M, Janka Z, Kálmán J. Oxidative stress: a bridge between Down's syndrome and Alzheimer's disease. Neurobiology of aging. 2007;28(5):648-76.

31. Tjoa ML, Cindrova-Davies T, Spasic-Boskovic O, Bianchi DW, Burton GJ. Trophoblastic oxidative stress and the release of cell-free feto-placental DNA. The American journal of pathology. 2006;169(2):400-4.

32. Okazaki S, Sekizawa A, Purwosunu Y, Farina A, Wibowo N, Okai T. Placenta-derived, cellular messenger RNA expression in the maternal blood of preeclamptic women. Obstetrics & Gynecology. 2007;110(5):1130-6.

33. Miura K, Miura S, Yamasaki K, Shimada T, Kinoshita A, Niikawa N, et al. The possibility of microarray-based analysis using cell-free placental mRNA in maternal plasma. Prenatal diagnosis. 2010;30(9):849-61.

34. Ng EK, Leung TN, Tsui NB, Lau TK, Panesar NS, Chiu RW, et al. The concentration of circulating corticotropin-releasing hormone mRNA in maternal plasma is increased in preeclampsia. Clinical Chemistry. 2003;49(5):727-31.

35. Purwosunu Y, Sekizawa A, Farina A, Wibowo N, Okazaki S, Nakamura M, et al. Cell-free mRNA concentrations of CRH, PLAC1, and selectin-P are increased in the plasma of pregnant women with preeclampsia. Prenatal diagnosis. 2007;27(8):772-7.

36. Sitras V, Paulssen R, Leirvik J, Vårtun Å, Acharya G. Placental gene expression profile in intrauterine growth restriction due to placental insufficiency. Reproductive Sciences. 2009;16(7):701-11.

37. Selseleh M, Keshavarz H, Mohebali M, Shojaee S, Eshragian MR, Mansouri F, et al. Production and evaluation of Toxoplasma gondii recombinant GRA7 for serodiagnosis of human infections. Korean J Parasitol. 2012 Sep;50(3):233-8.

38. Mansouri F. A review of stem cell technology. Alborz Univ Med J (AUMJ) 2018;7(3): 181-188.

AUMJ Alborz University of Medical Sciences Journal
Alborz University of Medical Sciences Journal, January 2019, Vol. 8, No. 1: 1-10 *Review Article*

Fatemeh Mansouri[1,2*]

[1] *Department of Genetics and Immunology, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran*
[2] *Cellular and Molecular Research Center, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran*

Non-invasive Prenatal Testing: New Prospects to Personalized Prenatal Medicine

Received: 2 sept. 2017; Accepted: 7 Mar. 2018

Abstract

Recent works have discovered, the focus on prenatal diagnosis have now opened up new start for a more detailed analysis of fetal genetics and genomics. The non-invasive diagnostic techniques are safe and effective tools that can provide a greater understanding of the fetus development and progresses, genetic fetal disorders and new approaches for treatment. There is growing evidence that the fetal assessment using transcriptomic analyses such as cell-free DNA and RNA molecules in the maternal blood are critical biomarkers for prenatal diagnosis. Transcriptoms are stable and present in blood circulation and amniotic fluid from pregnant women and rapidly growing number of reports of these molecules as biomarkers for various diseases and can be regulated by different stage of pregnancy.

The objectives of this review are I) explain the advances in molecular testing for analyzing fetal development and progress for prenatal diagnostics. II) Provide a summary of application and type of genetic material to personalized prenatal medicine. Therefore analysis of the transcriptome will help to overcome some of the limitations of current methods to attain ensure the quality and safety of the test and led to reduction invasive procedures and miscarriage.

Keywords: Prenatal testing, Personalized medicine, Non–invasive

***Corresponding Author:**
Department of Genetics and Immunology , Cellular and Molecular Research Center, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

Tel: 0912-3704153
E-mail: mansouri1600@hotmail.com