

## ارزیابی کارآئی روش استفاده از آلفا - فتو پروتئین در غربالگری بارداریها برای اختلالات لوله عصبی باز در آذربایجان شرقی

دکتر سید مجتبی محدث اردبیلی: دانشیار ژنتیک پزشکی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز: نویسنده رابط

E-mail: mohaddesmo@yahoo.com

خسرو هاشم زاده: کارشناس ارشد بیوشیمی بالینی

دکتر منیژه سیاح ملی: دانشیار زنان و مامائی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دکتر محمد رهبانی نوبر: استاد بیوشیمی بالینی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دریافت: ۸۴/۱۰/۱۳، پذیرش: ۸۵/۸/۱

### چکیده

**زمینه و اهداف:** اختلالات مربوط به لوله عصبی (Neural Tube Defects) که در نتیجه بروز اختلال در بسته شدن لوله عصبی طی هفته چهارم امبریونز بوجود می آیند، شایع ترین گروه از نقص های مادرزادی هستند که موجب معلولیت های شدید در انسان می گردند. هدف از این مطالعه تعیین مقادیر میانه آلفا - فیتو پروتئین در سرم مادران باردار در جمعیت استان آذربایجان شرقی و ارزیابی حساسیت روش استفاده از نشانگر بیوشیمیائی فوق در غربالگری پیش از تولد بارداریها برای اختلالات باز لوله عصبی در جمعیت مورد مطالعه بود.

**روش بررسی:** در این مطالعه مقادیر آلفا فیتو پروتئین موجود در نمونه های سرم تهیه شده از مادران باردار در منطقه شمالغرب کشور طی هفته های ۱۵ تا ۲۰ بارداری با استفاده از روش ایمونو آنزیمی (الایزا) اندازه گیری شد. نتایج حاصل از ۱۰۰ نمونه اول برای محاسبه مقادیر میانه AFP در جمعیت بومی مورد استفاده قرار گرفت و سپس با بکار گیری ضریب میانه حاصله در نرم افزار آماری مربوطه احتمال بروز خطر برای هر بارداری محاسبه گردید.

**یافته ها:** از ۳۰۰ بارداری که برای اختلالات باز لوله عصبی مورد غربال قرار گرفتند، ۹ بارداری به عنوان غربال مثبت تشخیص داده شدند. سونوگرافی هدفدار از بارداریهای فوق در دو مورد وجود اختلالات باز لوله عصبی، در دو مورد دیگر پلی هیدرآمینوس و در یک مورد شکاف لب دوطرفه را تأیید نمود. معاینه بالینی جنین های سقط شده یا نوزادان، نتایج حاصل از غربالگری را تأیید نمود. نوزاد حاصل از آخرین بارداری مورد بحث در موقع تولد شکاف لب دوطرفه همراه با شکاف کام و انسداد پیلور مادر زادی نشان داد. نوزادان حاصل از دو بارداری غربال مثبت دیگر کاملاً نرمال بودند. از نتیجه دو بارداری غربال مثبت باقی مانده، بعد از معرفی آنها به سونوگرافی برای بررسی از حیث اختلالات باز لوله عصبی اطلاعی به دست نیامد. میانگین وزن مادران باردار در جمعیت نمونه  $63/34 \pm 10/66$ ، در جمعیت غربال مثبت  $11/92 \pm 61/11$  و در جمعیت غربال منفی  $10/63 \pm 63/30$  محاسبه گردید.

**نتیجه گیری:** نتایج حاصل از غربالگری پیش از تولد طی این مطالعه با نتایج غربالگری مشابه مورد استفاده در مراکز فرانس در کشورهای دیگر مطابقت می کند. روش مورد استفاده در این مطالعه قابل تکرار است و به سادگی می تواند برای غربالگری جمعیت وسیعی از زنان باردار مورد استفاده قرار گیرد.

**کلید واژه ها:** اختلالات لوله عصبی، آلفا فیتوپروتئین، غربالگری، سرم مادر

### مقدمه

بمانند. آسیب های وسیع در ناحیه کمری-خاجی نیز معمولاً موجب فلج کامل یا موضعی اندامهای تحتانی می گردند. حدود ۹۵ درصد از نوزادان مبتلا به نقصهای لوله عصبی از مادرانی متولد می شوند که فاقد موارد مشابه در سوابق فامیلی خود هستند (۴). به همین دلیل غربالگری جمعیت هایی که شیوع این نوع اختلالات در آنها بالا است می تواند نقش مؤثری در پیش گیری از تولد افراد مبتلا داشته باشد. طی دهه های اخیر استفاده از برخی از مارکهای بیوشیمیائی موجود در سرم خون مادران باردار به منظور غربالگری برای بیماریهای فوق اهمیت ویژه ای پیدا کرده

نقص های مربوط به لوله عصبی با فراوانی حدود ۳-۱ در هر ۱۰۰۰ تولد یکی از شایع ترین اختلالات مادرزادی در اغلب جوامع می باشند (۳-۱). این گروه از بیماریها در اثر بروز اختلال در بسته شدن لوله عصبی طی اولین ماه از دوران حیات جنین رخ می دهند. نقص در بسته شدن انتهای فوقانی لوله عصبی موجب پیدایش آنسفالی یا انسفالوسل و اختلال در بسته شدن انتهای تحتانی لوله عصبی موجب نقص های مربوط به مهره های پشتی، از قبیل میلوسل کمری-خاجی یا مننگومیلوسل می گردد. نوزادان مبتلا به آنسفالی نمی توانند بیش از چند ساعت بعد از تولد زنده

است (۵). از سوی دیگر پیشرفت های حاصله در تکنولوژی سونوگرافی بر توانایی این روشها افزوده است. دست آوردهای فوق موجب شده است که امروزه استفاده از این روشها در برخی از کشورها بخشی ضروری از مراقبت های دوران بارداری به شمار آید. یکی از مارکرهایی که برای این منظور مورد استفاده قرار می گیرد نوعی پروتئین جنینی به نام آلفا فیتو پروتئین است. این پروتئین دارای ساختمان و عملی مشابه به آلبومین در افراد بالغ بوده و در ابتدا توسط کیسه زرده و متعاقب آن بوسیله کبد ساخته می شود. میزان آن در جریان خون جنین طی هفته های ۱۴-۱۲ بارداری به حداکثر (حدود ۳-۲ گرم در لیتر) می رسد و بعد از آن به تدریج کاهش پیدا می کند. بعد از تولد مقدار آن در خون نوزادان به سرعت پائین آمده ولی حداقل سطح آن در جریان خون افراد بالغ (۲۵ میلی گرم در لیتر) همچنان حفظ می شود (۶).

آلفا فیتو پروتئین همچنین در مایع آمنیوتیک به میزان یک صدم غلظت آن در سرم جنین یافت می شود. قسمت اعظم آن از ادرار جنین منشاء گرفته و حداکثر میزان آن (۲۰ میلی گرم در لیتر) در هفته ۱۳ بارداری قابل اندازه گیری است. طی سه ماهه های دوم و سوم بارداری بتدریج مقدار آن کاهش پیدا می کند به نحوی که در هفته ۲۲ بارداری به کمتر از ۱۰ میلی گرم در لیتر می رسد (۵).

وزن مولکولی آلفا فیتو پروتئین ۶۸۰۰۰ دالتون بوده، بنابراین به اندازه کافی کوچک است تا بتواند از جفت عبور کرده و وارد جریان خون مادری گردد. میزان پروتئین فوق در جریان خون مادر با افزایش سن بارداری افزایش پیدا می کند ولی غلظت آن در سرم خون مادران باردار برابر با یک هزارم غلظتی است که در مایع آمنیوتیک قابل اندازه گیری است. آلفا فیتو پروتئین سرم مادری در هفته ۳۰ بارداری به حداکثر میزان خود (حدود ۵۰۰ میکروگرم در لیتر) می رسد و پس از آن تا آخر دوران بارداری سیر نزولی پیدا می کند. در بارداریهایی که نقص در بسته شدن لوله عصبی جنین وجود دارد پروتئین های جنینی از طریق نشط از لوله عصبی و مویرگهای اطراف موجب افزایش غلظت پروتئین های فوق در مایع آمنیوتیک و به تبع آن در سرم خون مادر می شوند.

علی رغم شیوع بالای نقص های مربوط به لوله های عصبی در ایران، مطالعه قابل توجهی در مورد بکار گیری اینگونه روشها که از جایگاه بسیار مهمی در اغلب کشورهای جهان برخوردار است، برای پیش گیری از تولد نوزادان مبتلا به این نوع اختلالات صورت نگرفته است. در این مطالعه ضمن تعیین مقادیر میانگین آلفا فیتو پروتئین در سرم خون مادران باردار در منطقه آذربایجان شرقی طی هفته های ۲۰-۱۵ بارداری حساسیت این روش در تعیین بارداریهای در معرض خطر مربوط به اختلالات باز لوله عصبی مورد ارزیابی قرار گرفته است.

## مواد و روش ها

در مطالعه تحلیلی - مقطعی حاضر نمونه گیری از زنان باردار بصورت تصادفی و در هفته های ۱۵ الی ۲۰ بارداری صورت

گرفت. مجموعاً حدود ۳۰۰ نمونه سرمی که از بیمارستانهای مختلف استان آذربایجان شرقی معرفی شده بودند بدست آمد. قبل از اقدام به نمونه گیری فرم از قبل تهیه شده ای که حاوی سئوالاتی در مورد سن مادر، وزن مادر، نژاد، سیگاری بودن مادر، وجود سابقه ابتلاء در بارداریهای قبلی، ابتلاء مادر به دیابت و نیز رضایت فرد مورد مطالعه بود تکمیل گردید. در هر بار نمونه گیری حدود ۵-۳ میلی لیتر خون وریدی از فرد مورد مطالعه تهیه و پس از لخته شدن، سرم آن از طریق سانتریفوژ کردن در ۳۰۰۰ دور در دقیقه جدا گردید. سرم حاصل از هر نمونه به ۵-۳ لوله اپندورف با مقادیر مساوی منتقل و فریز گردید.

اندازه گیری مقادیر آلفا فیتو پروتئین به روش الایزا و با استفاده از کیت In Vitro Diagnosticum, Cat No: KP20IV (96 wells) صورت گرفت. این روش بر اساس اندازه گیری ایمنونوآنزیمی طراحی شده است و در آن دو نوع آنتی بادی مونوکلونال آنتی - AFP متفاوت به کار رفته است که یکی از آنها روی حفره های میکروپلیت و دیگری با هورس ردیش پراکسیداز جفت می شود. قرائت رنگ سنجی<sup>۱</sup> با استفاده از یک اسپکتروفتومتر در طول موج نوری ۴۵۰ نانومتر صورت می گیرد.

مقادیر اندازه گیری شده برای ۱۰۰ نمونه نرمال اول یا مد نظر قرار دادن مقادیر نرمالی که برای جمعیت های نزدیک به آذربایجان (از جمله ترکیه) در مقالات آورده شده بود و نیز مقادیر نرمال برای جمعیت های آسیایی موجود در نرم افزار آماری به عنوان معیار نسبی برای محاسبه مقادیر نرمال میانه منطقه آذربایجان شرقی مورد استفاده قرار گرفت. سپس مقادیر ضریب میانه مربوط به هر نمونه در هفته های بارداری مربوطه با استفاده از سطوح میانه بدست آمده برای هر یک از هفته های بارداری طی این مطالعه، محاسبه گردید. سن بارداری با استفاده از مشخص کردن دقیق اولین روز آخرین پرئود یا از طریق نتیجه سونوگرافی محاسبه شد. از نرم افزار آماری پریسکا (PRISCA, Prenatal Risk Calculation, TYPOLOG Software/GmbH, Hamburg, Germany) برای محاسبه احتمالات آماری استفاده شد. این نرم افزار نتایج حاصل از اندازه گیری مقادیر مارکرهای بیوشیمیایی برای هر نمونه را بر اساس سن مادر، وزن مادر، نژاد، سیگاری بودن مادر، وجود سابقه ابتلاء در بارداریهای قبلی، ابتلاء مادر به دیابت تصحیح و در نهایت خطر ابتلاء جنین را مشخص می کند. در نرم افزار پریسکا سطح جدا کننده<sup>۲</sup> ثابتی مورد استفاده قرار نمی گیرد. حدود ۵٪ نتیجه مثبت کاذب بصورت از پیش تعریف شده در نرم افزار در نظر گرفته شده است. اگر نرخ مثبت کاذب با میزان از پیش تعریف شده متفاوت باشد تغییر مقدار سطح جدا کننده به حدی که نرخ مثبت کاذب ۵٪ حاصل شود بوسیله نرم افزار پیشنهاد می گردد. به منظور استفاده از نرم افزار فوق ابتدا مقادیر ضریب میانه برای هر نمونه به همراه سن مادر و سایر اطلاعات خواسته شده وارد و نتیجه نهایی حاصل می گردد.

1. Colorimetric Reading

2. Cut off Level

بین افراد معرفی شده برای سونوگرافی یک مورد جنین مبتلا به انسفالوسل بوسیله سونوگرافی تشخیص داده شد، در حالی که نتیجه غربالگری برای بارداری فوق منفی بود. از ۳۰۰ نمونه مورد مطالعه توسط روش غربالگری بوسیله مارکرهای بیوشیمیایی، ۹ نمونه (۳ در صد) برای اختلالات باز لوله عصبی غربال مثبت شناخته شدند. مقادیر اندازه گیری شده برای هر یک از ۹ نمونه غربال مثبت، مقادیر ضریب میانه محاسبه شده و خطر بروز اختلالات لوله عصبی باز در هر مورد در جدول شماره ۲ آورده شده است. گرچه در نرم افزار پریسکا سطح جدا کننده ثابتی برای تعیین افراد غربال مثبت استفاده نمی گردد و سطح جدا کننده با هدف حصول حدود ۵٪ نتیجه مثبت کاذب و بصورت شناور تعیین می گردد، لیکن بطوریکه از جدول بالا قابل برداشت است در کلیه نمونه های غربال مثبت ضریب میانه محاسبه شده بالاتر از ۲ می باشد. این در حالی است که در کلیه نمونه های غربال منفی مقادیر فوق کمتر از ۲ بود.

بدنبال نتایج فوق از بیمارانی که سطوح تغییر یافته ای از آلفا فیتو پروتئین را نشان می دادند سونوگرافی هدف دار به عمل آمد. از ۹ بیمار دو بیمار بعد از سونوگرافی مراجعه نکردند. در یکی از بیماران از ۷ بیمار باقی مانده، عدم تشکیل استخوان جمجمه و لوله عصبی باز (از لومبر تا استخوان جمجمه) در جنین مشاهده گردید. به دنبال تشخیص فوق (آنسفال) همراه با لوله عصبی باز والدین اقدام به زایمان زودرس نمودند. بعد از تولد نوزاد مشاهدات سونوگرافیک در جنین مذکور فوق تأیید گردید. در این بارداری امکان نمونه گیری از مایع آمنیوتیک برای مطالعات بعدی میسر نگردید. در یکی دیگر از بیماران غربال مثبت عدم تشکیل استخوان جمجمه تشخیص داده شد. در مراجعه حضوری بیمار مشخص گردید که اقدام به ختم حاملگی شده است و حاصل آن جنین آنسفال بوده است. سونوگرافی از دو بیمار دیگر پلی هیدرامنیوس نشان داد در حالی که نقصی در لوله عصبی ملاحظه نگردید.

در صورت مثبت بودن نتیجه غربالگری از بیمار سونوگرافی مجدد به عمل آمد تا سن بارداری مورد استفاده قرار گرفته در محاسبات، مجدداً تأیید شود و در عین حال برخی پیچیدگی های احتمالی مربوط به بارداری (از قبیل بارداری دوقلویی یا چند قلویی، عفونت جنینی و برخی سندرومها که در آنها نیز سطوح آلفا فیتو پروتئین افزایش می یابد از قبیل بیماری نفروز مادرزادی مورد بررسی قطعی قرار گیرد. سپسس بیمار برای آمینو سنتز و نهایتاً تشخیص از طریق اندازه گیری مقادیر آلفا فیتو پروتئین در مایع آمنیوتیک و تست استیل کولین استراز معرفی گردید.

### یافته ها

مقادیر آلفا فیتو پروتئین سرم مادری، برای هریک از نمونه های تهیه شده با استفاده از روشهای ذکر شده در بخش مواد و روشها اندازه گیری شد. نتایج حاصل از مطالعه حدود ۱۰۰ نمونه اول برای محاسبه میانه مربوط به مارکرهای فوق در هریک از هفته های ۱۵ الی ۲۰ مورد استفاده قرار گرفت. سطوح میانه محاسبه شده در این مطالعه در جدول ۱- نشان داده شده است.

جدول ۱: مقادیر میانه MS-AFP(ng/ml) در هفته های مختلف بارداری

هفته	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰
میانه	۲۱/۷	۳۰	۳۳/۹	۴۱/۹	۴۷/۳	۵۷/۹

به منظور از بین بردن اثر سن بارداری بر روی مقادیر اندازه گیری شده و فراهم شدن امکان مقایسه بارداریهای سالم و مبتلا، ضریب میانه از طریق تقسیم مقدار بدست آمده برای هریک از مارکرهای اندازه گیری شده در سرم مادر باردار بر مقدار میانه مربوط به همان هفته بارداری محاسبه گردید. به منظور محاسبه خطر ابتلاء جنین به اختلالات باز لوله عصبی، مقدار ضریب میانه محاسبه شده برای هر نمونه به همراه وزن و سن مادر در حین نمونه گیری، به نرم افزار پریسکا ارائه گردید.

همزمان با نمونه گیری برای آزمون غربالگری برای اختلالات باز لوله عصبی، بیماران به سونوگرافی روتین نیز معرفی شدند. در

جدول ۲: مقادیر اندازه گیری شده برای آلفا فیتو پروتئین سرم مادری در هفته های ۱۵-۲۰ بارداری MOM (ng/ml) محاسبه شده و خطر بروز اختلالات لوله عصبی باز در هر مورد

ردیف	هفته	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	MOM	خطر عود بیماری
۱				۱۷۰/۷۰				۵/۰۳	>۱:۵۰
۲						۱۲۲/۶۰		۲/۶۰	۱:۱۰۴
۳		۵۱/۵۰						۲/۳۷	۱:۱۱۵
۴		۱۶۴/۷۰						۷/۵۹	>۱:۵۰
۵		۵۶/۱۰						۲/۵۰	۱:۵۵
۶				۱۰۴/۲۰				۳/۰۷	>۱:۵۰
۷			۱۵۵/۲۰					۵/۱۷	>۱:۵۰
۸					۱۲۸/۹۰			۳/۰۸	>۱:۵۰
۹								۴/۶۰	>۱:۵۰

بستگی دارد. باید متذکر شد که برنامه های غربالگری برای اختلالات مربوط به لوله های عصبی باز ممکن است در ابتدا حدود ۱۰ درصد از جمعیت مورد مطالعه را به عنوان غربال مثبت طبقه بندی نماید و بنابراین نیازمند اقدامات تشخیصی بعدی خواهند بود. این مسئله وسعت امکانات لازم برای اجرای چنین پروژه هایی را نشان می دهد. بسیاری از اینگونه زنان در حقیقت در مطالعات بعدی نرمال تشخیص داده خواهند شد و بنابراین از سلامت جنین خود اطمینان بدست خواهند آورد. با این حال زنانی که به عنوان غربال مثبت معرفی می شوند اضطراب و نگرانی قابل توجهی را تجربه می نمایند که تقلیل میزان نگرانی در اینگونه مادران نیازمند پیش بینی امکانات مناسب برای ارائه خدمات مشاوره ای در اینگونه موارد است.

رابطه بین مقادیر تغییر یافته آلفا فیتو پروتئین در مایع آمنیوتیک و برخی اختلالات جنینی برای اولین بار در سال ۱۹۷۲ گزارش گردید (۷). این یافته متعاقباً به عنوان یک روش آزمایشگاهی برای تشخیص نقص های لوله عصبی باز مورد توجه قرار گرفت. دقت و حساسیت این روش برای اولین بار در کشور انگلستان طی یک مطالعه وسیع در بیش از ۱۳۰۰۰ نمونه مایع آمنیوتیک تهیه شده از بارداری های واقع در سه ماهه دوم که مشتمل بر ۳۸۵ بارداری با اختلال باز لوله عصبی می شد مورد ارزیابی قرار گرفت (۸). با تعیین مقادیر میانگین آلفا فیتو پروتئین موجود در مایع آمنیوتیک در بارداریهای نرمال در هر یک از هفته های بارداری و محاسبه ضریب میانه برای هر یک از نمونه ها ۹۸٪ از بارداریهای غیر طبیعی مورد تشخیص قرار گرفتند. در این مطالعه فقط ۰/۵ درصد از بارداری های نرمال به غلط به عنوان غیر طبیعی معرفی شدند که علت آن مشترک بودن بخش کوچکی از منحنی توزیع مقادیر آلفا فیتو پروتئین موجود در مایع آمنیوتیک در بارداریهای نرمال و بارداریهای مبتلا به اسپاینا بیفیدامی باشد (شکل ۱).

علی رغم دقت و حساسیت بالای روش، استفاده از آن برای غربال کردن همه بارداریها عملی نیست چرا که در این صورت بسیاری از بارداریهای نرمال بدلیل خطرات مربوط به آمنیوسستز سقط خواهند شد. زنانی که سابقه قبلی بارداری برای جنین های مبتلا به نقص های لوله عصبی را دارند در معرض خطر بیشتری قرار دارند (بعد از یک بارداری به جنین های مبتلا به این نوع اختلالات خطر ۱۰ برابر جمعیت معمولی و بعد از ۲ بارداری مبتلا خطر ۲۰ برابر می گردد) و در اینگونه موارد آمنیوسستز و تشخیص بیماری جنین برونش فوق پیشنهاد می گردد. لیکن فقط ۵ درصد از بارداریهای مبتلا دارای سابقه مثبت موارد مشابه هستند. روشهای غربالگری با استفاده از سنجش میزان پروتئین فوق در خون مادران باردار می تواند نقش مهمی در تعیین جمعیتی از زنان باردار که در معرض خطر ابتلاء بیشتری قرار دارند داشته باشد.

از جمله عواملی که بر روی تفسیر نتایج غربالگری اثر می گذارند، سن بارداری است. در مطالعه ای که Benn و همکاران (۹) انجام دادند به این نتیجه رسیدند که با تعیین سن

جنین مربوط به یکی دیگر از بارداریها در سونوگرافی شکاف لب دوطرفه نشان داد. بعد از تولد مشاهده گردید که نوزاد به شکاف لب دوطرفه همراه با شکاف کام و نیز انسداد پیلور مادر زادی مبتلا است. این نوزاد ۳ روز بعد از تولد فوت نمود و در سونوگرافی از دو بیمار باقی مانده علائم غیر طبیعی خاصی در جنین مربوطه مشاهده نگردید. بررسی نوزادان بعد از تولد نرمال بودن آنها را تأیید نمود.

حد اکثر وزن در کل جمعیت مورد مطالعه ۹۸ کیلو گرم و حداقل وزن ۴۴ کیلوگرم و میانگین وزن بیماران مورد مطالعه برابر با  $۱۰/۶۶ \pm ۶۳/۳۴$  کیلو گرم می باشد. میانگین وزن در افراد غربال مثبت برای اختلالات باز لوله عصبی برابر با  $۱۱/۹۲ \pm ۶۱/۱۱$  و در افراد غربال منفی برابر  $۱۰/۶۳ \pm ۶۳/۶۰$  محاسبه گردید که تفاوت معین داری بین این دو ملاحظه نمی گردد.

مطالعات آماری با استفاده از روشهای کای اسکویر و آزمون فیشر رابطه معنی داری بین وزن مادران باردار، وزن نوزاد، جنسیت جنین و ازدواج فامیلی و غیر فامیلی و مرگ جنین با غربال مثبت بودن بارداری نشان نداد.

## بحث

غربالگری جمعیتی، عبارت است از آزمون کل افراد یک جمعیت به منظور شناسایی افرادی که در معرض خطر بیشتری از ابتلاء به یک بیماری ژنتیکی هستند تا متعاقب آن بتوان با استفاده از روشهای دقیق تر تشخیصی نسبت به تشخیص قطعی پیش از تولد بیماری اقدام نمود. این روش قابل بکارگیری در مورد همه انواع بیماریهای ژنتیکی نیست، چرا که شروط خاصی برای تحقق امکان استفاده از آنها وجود دارد، از جمله اینکه: بیماری کاملاً تعریف شده باشد، از فراوانی قابل توجهی برخوردار باشد، امکان تشخیص زودهنگام آن وجود داشته باشد، میزان جواب های مثبت کاذب و منفی کاذب روش پایین باشد (روش از حساسیت و اختصاصی بودن بالایی برخوردار باشد) و ارزان قیمت باشد. بنابراین اگرچه بسیاری از بیماریهای ژنتیکی کاملاً تعریف شده هستند ولی بقدری نادر هستند که ارزش غربالگری را ندارند. از سوی دیگر زمانی غربالگری برای یک بیماری ژنتیکی ارزشمند خواهد بود که امکان تشخیص به موقع پیش از تولد یا بلافاصله بعد از تولد آن وجود داشته باشد. چرا که تشخیص به موقع پیش از تولد امکان ختم حاملگی برای پیش گیری از تولد نوزادان مبتلا را فراهم می کند و تشخیص به موقع بعد از تولد در برخی موارد موجب درمان به موقع بیماری در نوزادان مبتلا می شود. حساسیت یک روش غربالگری از طریق تعیین نسبت افراد مبتلایی که تشخیص داده می شوند و اختصاصی بودن آن با محاسبه نسبت افراد نرمالی که تشخیص داده می شوند مشخص می شود.

برای نتیجه گیری مطلوب، برنامه های غربالگری باید بر روی کل جمعیت زنان باردار یک جامعه بکار گرفته شود و اجرای چنین پروژه ای به امکانات آزمایشگاهی و بیمارستانی آن جامعه

اکثریت بارداریهای مبتلا را شناسائی کرد که کلیه بارداریها برای اینگونه اختلالات غربال شوند. به همین دلیل امروزه غربالگری پیش از تولد برای اختلالات مربوط به لوله عصبی و ناهنجاریهای کروموزومی بخشی روتین از مراقبت های بهداشتی در بسیاری از کشورها محسوب می شود.

این روش ها حساسیت روشهای تشخیصی را ندارند و کاملاً اختصاصی هم عمل نمی کنند. بر اساس مطالعات انجام شده قبلی در عمل حدود ۱۵-۱۰ درصد از بارداریهای حامل جنین مبتلا به اسپینا بیفیدی باز تشخیص داده نمی شوند (۵)، در حالی که انواع دیگری از اختلالات جنینی و پیچیدگی های بارداری ممکن است به این طریق تشخیص داده شوند. بنا براین هدف اینگونه غربالگری ها شناسائی گروه زنان بارداری است که جنین شان در معرض خطر بیشتری از ابتلاء به یک اختلال جدی قرار دارد.

مقایسه مقادیر میانه سطح سرمی آلفا فیتو پروتئین در هفته های ۲۰-۱۵ بارداری حاصل از این مطالعه با سطوح مشابه آن در نرم افزار پرسکا، در کشور بریتانیا (۵) و کشور همجوار ترکیه (۱۴) تفاوت معنی داری را نشان می دهد. این مشاهدات بیانگر آن است که فقط در صورتی می توان به صحت نتایج حاصل از غربالگری اطمینان داشت که مقادیر ضریب میانه برای هر یک از نمونه ها با استفاده از مقادیر میانه ای که برای آن منطقه جغرافیایی خاص محاسبه شده است انجام گرفته باشد. بنا براین نمی توان مقادیر ارائه شده بوسیله کیت ها یا مقادیر میانه گزارش شده بوسیله سایر محققین در کشورهای دیگر را مبنای این مطالعات قرار داد.

در بین افرادی که مورد مطالعه قرار گرفتند در یک بارداری جنین مربوطه قبل از حصول نتایج مربوط به غربالگری از مطالعات سونوگرافیک مبتلا به انسفالوسل تشخیص داده شد، در حالی که نتیجه غربالگری بیوشیمیائی متعاقب آن منفی بود. این مشاهده دلالت بر نتایج منفی کاذبی در حدود ۰/۳۳ درصد می کند. با توجه به اینکه امکان اطلاع از نتایج همه ۳۰۰ بارداری مورد مطالعه در این تحقیق فراهم نیامد، به نظر می رسد میزان نتایج منفی کاذب تا اندازه ای متفاوت با در صد مشاهده شده فوق باشد. از مجموع ۳۰۰ نمونه سرم تهیه شده از خون محیطی مادران باردار در مجموع ۹ نمونه (۳ درصد) برای اختلالات باز لوله عصبی (آنسفالو و اسپینا بیفیدا) غربال مثبت تشخیص داده شدند. سونوگرافی هدفدار به عمل آمده از بارداریهای غربال مثبت در دو مورد (۰/۷ درصد از نمونه های مورد مطالعه) وجود شواهدی دال بر این نوع اختلالات را تأیید نمود که در نهایت بعد از ختم بارداری نیز نتایج فوق اثبات گردید. در دو بارداری با نتایج مثبت غربالگری، سونوگرافی به عمل آمده وجود پلی هیدرامنیوس را گزارش نمود. ضریب میانه مربوط به سطوح آلفا فیتو پروتئین سرم مادری در بارداریهای فوق به ترتیب برابر با ۲/۵ و ۳/۰۸ محاسبه گردیده بود. این مشاهدات می تواند مؤید گزارش های قبلی در مورد تأثیر پلی هیدرامنیوس در افزایش سطوح مربوط به آلفا فیتو پروتئین در سرم خون مادران باردار باشد. در سال ۱۹۸۷ Dyer و همکارانش (۱۵) ارتباط بین

بارداری بوسیله اولتراسونوگرافی، تعداد افرادی که نیاز به آمیوستیز پیدا می کنند کاهش پیدا می کند در حالی که نسبت های تشخیصی حفظ و حتی بهبود می یابند. در واقع یکی از عوامل مهم تأثیر گذار در ارائه یک تفسیر صحیح از نتایج غربالگری تعیین دقیق سن بارداری است. چرا که سن بارداری در تبدیل مقادیر مارکرهای مورد استفاده در مطالعه به مقادیر ضریب میانه تأثیر مستقیم دارد و اشتباه در محاسبه ضرایب میانه مارکرها موجب بروز خطا در بدست آوردن نسبت های احتمال و خطر های مرکب و نهایتاً معرفی نا بجای بسیاری از زنان باردار برای تست های تشخیصی تهاجمی یا بالعکس خواهد گردید.

Zeitune و همکارانش (۱۰) زمان شروع قاعدگی را به عنوان مبنای سنجش سن بارداری پیشنهاد می کنند، در صورتی که Aittken و Crossley (۱۱) معتقدند زمانیکه تاریخ شروع آخرین عادت ماهانه نامعلوم است و یا اندازه گیری نسبت BPD/FL به وسیله اولتراسونوگرافی، نشان دهنده دو هفته اختلاف بین تعیین سن بارداری توسط LMP و سونوگرافی است، از سونوگرافی جهت تعیین سن بارداری در موقع نمونه گیری باید استفاده شود. مطالعه حاضر نشان می دهد که استفاده از تاریخ شروع آخرین عادت ماهانه برای معین کردن زمان نمونه گیری به دلیل خطاهای احتمالی در اعلام زمان LMP توسط نمونه دهنده مناسب نیست و باید از اولتراسونوگرافی جهت این کار استفاده شود. مضافاً بر اینکه برخی از زنان ممکن است خونریزی هایی کوتاه مدت حدود چهارده روز بعد از باروری مشاهده کنند که این در نتیجه اثرات تخریبی لانه گزینی تروفوبلاست رخ می دهد و مادران ممکن است این را به عنوان شروع آخرین عادت ماهانه تلقی نمایند در صورتی که این افراد حامل جنین چهار هفته ای می باشند. چنین خطایی در تعیین LMP، سن بارداری را در موقع نمونه گیری حدود چهار هفته بیشتر نشان خواهد داد و این میزان از خطا به نحو مؤثرتری بررسی های بعدی را تحت تأثیر قرار خواهد داد.

بدون دخالت تشخیص پیش از تولد و ختم انتخابی بارداریهای مبتلا، فراوانی حین تولد اختلالات مربوط به لوله عصبی در سال ۱۹۷۰ میلادی در کشور بریتانیا حدود ۸-۶ مورد در هزار بوده است که در نتیجه بهبود وضعیت تغذیه و اثرات پیشگیری کننده ویتامین ها (بخصوص اسید فولیک) به حدود ۳-۲ در هزار تولد در سال ۲۰۰۰ کاهش یافته است. در مناطقی از این کشور که برنامه های غربالگری برای اختلالات مربوط به لوله عصبی بصورت فعال در حال اجراء بوده است شیوع حین تولد بیماری به ۰/۶ در هزار تنزل نموده است (۱۲). آماری مشابه در این خصوص توسط محققین سایر کشورها نیز گزارش شده است (۱۳). گزارشات فوق اهمیت غربالگری و تغذیه در پیش گیری از تولد نوزادان مبتلا به اختلالات مربوط به لوله عصبی را نشان می دهد.

از آنجائیکه بیش از ۹۵٪ از نوزادان مبتلا به اختلالات لوله عصبی از مادرانی متولد می شوند که سابقه فامیلی قبلی در این رابطه وجود نداشته است، روشن است که فقط در صورتی می توان

شده و انجام محاسبات مربوط به احتمال تظاهر اختلالات مربوط به لوله عصبی در آن بر اساس تصحیح سطوح اندازه گیری شده بر مبنای وزن مادران باردار صورت گرفته است. نتایج حاصل از این مطالعه با نتایج غربالگری مشابه مورد استفاده در مراکز رفرانس در کشورهای دیگر مطابقت می کند. روش مورد استفاده در این مطالعه قابل تکرار است و به سادگی می تواند برای غربالگری جمعیت وسیعی از زنان باردار مورد استفاده قرار گیرد.

### تقدیر و تشکر

مطالعه حاضر بخشی از نتایج حاصل از طرح تحقیقاتی مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز می باشد که بدینوسیله مراتب سپاس و تشکر خود را اعلام می داریم.

پلی هیدرآمینوس و افزایش میزان آلفا فیتو پروتئین سرم مادری را در سه ماهه دوم بارداری ثابت کردند و دلیل آنرا اختلالات پاتولوژیک جفت دانستند. از ۹ بارداری که به عنوان غربال مثبت تشخیص داده شدند در دو مورد چه از طریق سونوگرافی و چه بعد از تولد علائمی دال بر وجود چنین اختلالی در جنین مشاهده نگردید. این مشاهده نیز دلالت بر نتایج مثبت کاذبی به میزان ۰/۷ در صد می نماید که در مقایسه با مطالعات مشابه از سطح قابل قبولی برخوردار است (۱۲ و ۱۴).

همچنین طی بررسی حاضر رابطه معکوسی بین وزن مادران باردار و سطوح آلفا فیتو پروتئین سرم مادری مشاهده گردید. چنین مشاهده ای قبلاً توسط دیگر محققین نیز گزارش گردیده است (۱۶). این مشاهده لزوم تصحیح مقادیر اندازه گیری شده بر اساس وزن مادران باردار را نشان می دهد. نرم افزار پریسکا که در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت بر مبنای چنین مشاهداتی طراحی

### References

- Crossley JA, Aitken DA, Berry E, Connor JM. Impact of a regional screening programme using maternal serum alpha-fetoprotein (AFP) and human chorionic gonadotrophin (hCG) on the birth incidence of Down's syndrome in the west of Scotland. *J Med Screening*. 1994; **1**:180-183
- Gucciardi E, Pietrusiak MA, Reynolds DL, Rouleau J. Incidence of neural tube defects in Ontario, 1986-1999. *CMAJ*. 2002; **167**(3): 237-40.
- Detrait ER, George TM, Etchevers HC, Gilbert JR, Vekemans M, Speer MC. Human neural tube defects: developmental biology, epidemiology, and genetics. *Neurotoxicol Teratol*. 2005; **27**(3): 515-24.
- UK Collaborative study on Alpha-fetoprotein in Relation to Neural Tube Defects: Maternal serum alpha-fetoprotein measurement in antenatal screening for anencephaly and spina bifida in early pregnancy. *Lancet*. 1997; 1323-1332.
- Aitken DA, Crossley JA. Prenatal screening-biochemical in Prenatal Diagnosis. in *Obstetric Practice*. Edited by Whittle MJ and Connor JM. Oxford: *Blackwell Science*; 1995, 12-29.
- Nakatsu T, Uwabe C, Shiota K. Neural tube closure in humans initiates at multiple sites: evidence from human embryos and implications for the pathogenesis of neural tube defects. *Anat Embryol (Berl)*. 2000; **201**(6): 455-66.
- Brock DJH, Sutcliffe R. Alpha fetoprotein in the antenatal diagnosis of anencephaly and spina bifida. *Lancet*. 2003; 197-199.
- Second report of the UK collaborative study on alphafetoprotein in relation to neural tube defects. Amniotic fluid alphafetoprotein measurement in antenatal diagnosis of anencephaly and open spina bifida in early pregnancy. *Lancet*. 1979; 625-662.
- Benn PA, Borgida A, Horne D, et al. Down syndrome and neural tube defect screening: The value of using gestational age by ultrasonography. *Am J Obstet Gynecol*. 1997; **15**: 1056-61.
- Zeitune M, Aitken DA, Crossley JA. Estimating the risk of a fetal autosomal trisomy at mid-trimester using maternal serum alphafetoprotein and age: a retrospective study of 142 pregnancies. *Prenatal Diagn*. 1991; **11**: 847-858.
- Aitken DA, Crossley JA. Screening for chromosome abnormalities. *Current Obstetrics and Gynecology*. 1992; **2**:65-71.
- Cuckle HS, Wald NJ. The impact of screening for neural tube defects in England and Wales. *Prenatal Diagnosis*. 1987; **7**: 91-99.
- American academy on pediatrics, Committee on Genetics. Maternal serum alpha-fetoprotein screening, *Pediatrics*. 1992; **88**(6): 1282-1283.
- Akbas HS, Ozben T, Alper O, Ugur A, Yucel G and Luleci G. Maternal serum screening for neural tube defects and trisomy 18. *Clin Chem Lab*. 2001; **39** (6): 487-490.
- Dyer SN, Burton BK, Nelson LH. Elevated maternal serum alpha-fetoprotein levels and oligohydramnios: poor prognosis for pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol*. 1987; **157**(2): 336-9.
- Aitken DA, Crossley JA. Neural tube defects/alpha-fetoprotein/Down's syndrome screening. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*. 1997; **9**: 113-120.