

شماره ۴۹

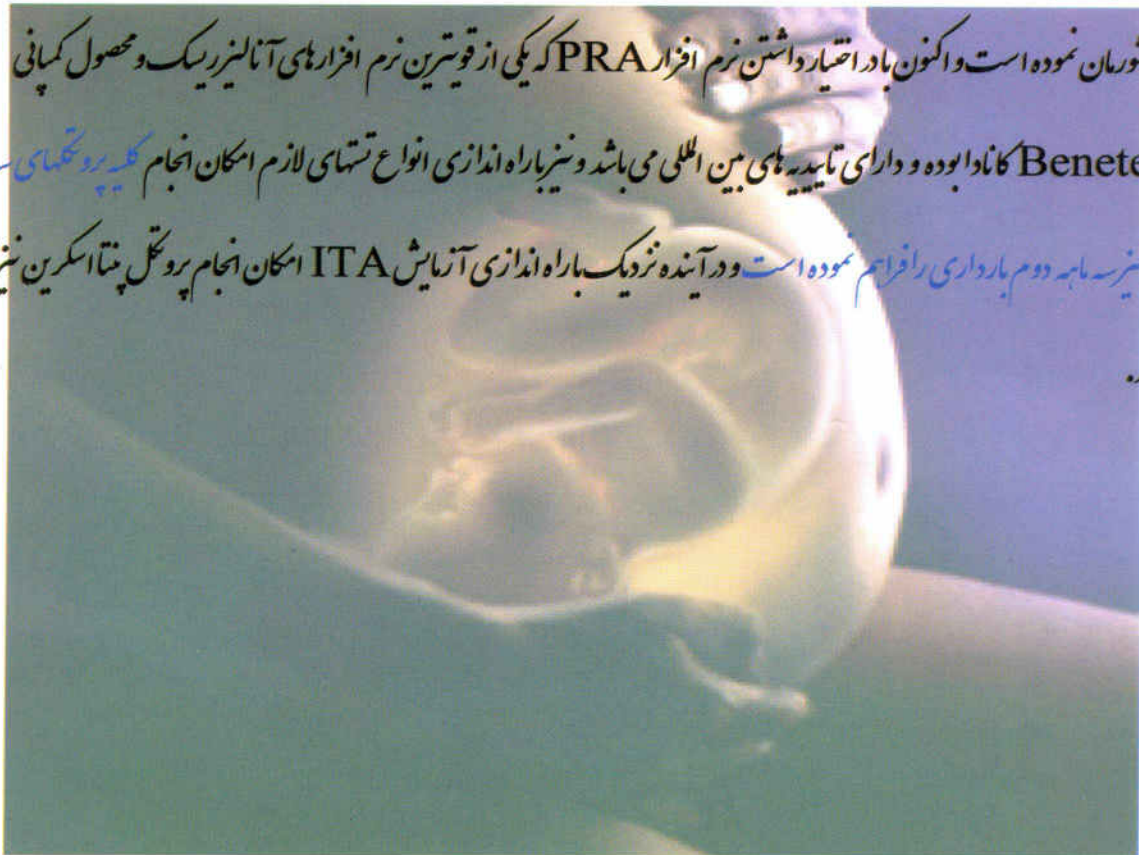
آزمایشگاه پزشکی پارسه

آشنایی با انواع روشهای غربالگری آزمایشگاهی سلامت جنین

(پروتکل های سه ماهه اول و سه ماهه دوم و پروتکل های ترکیبی)

- غربالگری سرم مادر
- آزمایش های تهاجمی و غیر تهاجمی در حین حاملگی
- تفسیر نتایج غربالگری

آزمایشگاه پزشکی پارسه معتقد است که طی ۵ سال گذشته با انجام صدها مورد آزمایش ترپل مارکر گلی حر چند کوچک جهت داشتن نسلی سالم به مادران



باردار کشورمان نموده است و اکنون با در اختیار داشتن نرم افزار PRA که یکی از قویترین نرم افزارهای آنالیز ریسک و محمول کمپانی Benetech کانادا بوده و دارای تاییدیه های بین المللی می باشد و نیز باره اندازی انواع تستهای لازم امکان انجام کلیه پروتکل های سه ماهه اول و نیز سه ماهه دوم بارداری را فراهم نموده است و در آینده نزدیک باره اندازی آزمایش ITA امکان انجام پروتکل پنتا اسکرین نیز فراهم خواهد شد.

جهت کسب اطلاعات بیشتر به سایت WWW.ParsehLab.com مراجعه فرموده و یا با تلفتهای ۵۱-۴۴۲۸۷۶۳۲ تماس حاصل نمایید.

نشانی ما: تهران - پامن تر از فلک دوم صادقیه - خیابان جناح - نبش عابدزاده - ساختمان پزشکان پارسه

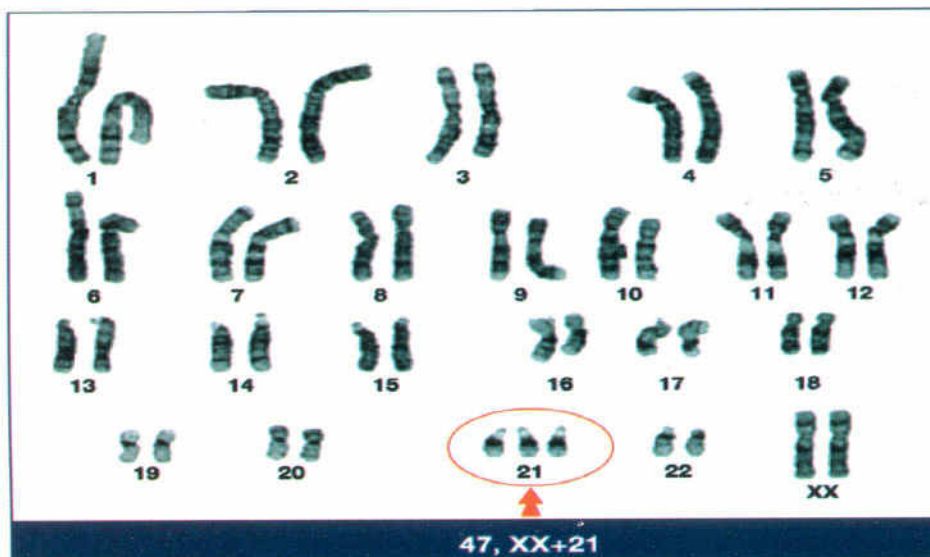
آزمایشگاه پزشکی پارسه

مقدمه:

علت سندروم داون در ۹۵٪ موارد جدا نشدن کروموزوم ۲۱ طی تقسیم سلولی (میوز) است که در ۹۰٪ موارد در تخمک روی می دهد. وجود کروموزوم ۲۱ اضافی در سندروم داون باعث فعالیت بیش از حد ژن های درگیر و نهایتاً ساخت بیش از حد پروتئین های خاصی می گردد که عامل ظهور علامت سندروم داون هستند .

عامل اصلی سه تائی شدن کروموزوم تا به حال دقیقاً مشخص نشده ولی بالا بودن سن مادر مهمترین عاملی است که تا به حال شناخته شده است.

در سال ۱۸۶۶ میلادی دکتر جان لنگدون داون (John Langdon Down) مقاله ای در انگلستان منتشر کرد که در آن از بچه هائی صحبت می شد که خصوصیات مشترکی داشتند و ضریب هوشی آنها پائین تر از بچه های معمولی بود . دکتر داون این گروه از کودکان را به دلیل شباهت زیاد چهره آنها به مردم مغولستان ، مونگول نام نهاد؛ اما سال ها بعد یعنی در اوایل دهه ۶۰ میلادی بر اثر اعتراض متخصصان ژنتیک آسیائی این نام از تمامی متون علمی حذف گردید و از آن پس این اختلال، سندروم داون (Down's Syndrome) نام گرفت. در سال ۱۹۳۰ میلادی دانشمندان دریافتند که علت بروز سندروم داون اختلالات ژنتیکی است.



شکل ۱: بررسی کاریوتایپ یک نوزاد دختر مبتلا به سندروم داون

با توجه به شیوع نسبتاً فراوان سندروم داون، طی ۱۰ سال گذشته روش های گوناگونی برای تشخیص پیش از تولد این بیماری خطرناک ابداع شده است که آمنیوسنتز (Amniocentesis) یا به دست آوردن سلولهای جنین و بررسی کروموزومی آنها از جمله این روش ها می باشد. اما به دلایل متعدد همچون به دنبال داشتن خطر سقط و هزینه زیاد انجام تست، امکان انجام این روش ها برای تمامی زنان باردار وجود ندارد. به همین دلیل در سالهای اخیر روش های غربالگری برای شناسائی زنان باردار که بیشتر در معرض خطر هستند ابداع شده و این افراد

سندروم داون به عنوان شایع ترین اختلال ژنتیکی شناخته می شود (با شیوع ۱/۵ مورد در هر ۱۰۰۰ زایمان که به تولد نوزاد زنده می انجامد). درصدی از جنین های مبتلا به سندروم داون پیش از زایمان مادران می میرند .

اگرچه بالا بودن سن مادر خطر ابتلا جنین به سندروم داون را

افزایش می دهد اما ۸۰ درصد موارد این سندروم در زنان زیر ۳۵ سال

بروز می کند چنانچه تعداد زایمان در این سن بیشتر است.

آزمایشگاه پزشکی پارسه

اگرچه افراد با انجام این تست به آرامش خیال می‌رسند اما زمانی که نتیجه غربالگری مثبت است می‌تواند به یک نگرانی بی‌مورد بدل شود. اگرچه آزمایشات تشخیصی برای پیگیری وجود دارد ولی خطر انجام این تستها و نیز زمان نسبتاً طولانی گرفتن نتیجه آزمایش را نمی‌توان نادیده گرفت. بسیار مهم است که بدانید نتیجه تست برای شما چه معنایی دارد و شما براساس نتایج به دست آمده چه تصمیمی خواهید گرفت.

تاریخچه غربالگری سندروم داون

در سال ۱۹۷۲ دکتر بروک و همکارانش در یافتند که ابتلاء جنین به نقص لوله عصبی (NTDs) (Neural Tube Defects) باعث بالا رفتن غلظت آلفا فتوپروتئین در سرم مادر می‌شود. بنابراین در اواخر دهه ۷۰ میلادی اندازه گیری سطح آلفا فتو پروتئین در سرم مادر به عنوان تست غربالگری NTDs معرفی شد. در سال ۱۹۸۴ مشخص شد، کاهش آلفا فتو پروتئین در جنین های مبتلا به سندروم داون را می‌توان به عنوان مارکری برای غربالگری مورد استفاده قرار داد. در همان سالها نیز ارتباط بین سطح بالای hCG و سطح پایین استریول آزاد در خون مادر با وجود سندروم داون مشخص گردید و در سال ۱۹۸۸ تست تریپل مارکر که در آن سطح آلفا فتو پروتئین، hCG و استریول آزاد خون مادر برای تعیین ریسک سندروم داون، تریزومی ۱۸ و NTDs اندازه گیری می‌شود، ابداع شد. میزان تشخیص این تست برای سندروم داون حدود ۶۷٪ و میزان مثبت کاذب آن ۵٪ است (۵٪ از تمام کسانی که تست تریپل مارکر برای آنان انجام می‌شود جواب مثبت دریافت می‌کنند). در سال ۱۹۹۲ دکتر نیکولایدس و همکارانش ارزش اندازه گیری چین پشت گردن جنین را در ارزیابی ریسک سندروم داون اثبات کردند. این یافته بر مبنای وجود ادم زیر جلدی در جنین های مبتلاء به سندروم داون استوار بود. در همان زمان دانشمندان دریافتند که مارکرهای بیوشیمیایی PAPP-A و β -hCG آزاد نیز دارای ویژگی و حساسیت قابل قبولی برای غربالگری سندروم داون در سه ماهه اول بارداری هستند. تستی که بر اساس اندازه گیری دوماکر بیوشیمیایی PAPP-A و β -hCG آزاد برای غربالگری سندروم داون استفاده می‌شد به تست دو گانه یا دابل مارکر موسوم بود و در صورتی که علاوه بر اندازه گیری مارکرهای بیوشیمیایی، مارکر NT نیز اندازه گیری شده و در محاسبه ریسک از آن استفاده گردد، تست حاصل غربالگری توام سه ماهه اول خوانده می‌شود. هر دو پروتکل قادر به تعیین ریسک سندروم داون، تریزومی ۱۸ و تریزومی ۱۳ هستند، گرچه هیچ کدام قادر به غربالگری NTDs نیستند. میزان تشخیص تست دابل مارکر و غربالگری توام سه ماهه اول برای سندروم داون به ترتیب ۶۷٪ و ۸۵٪ است. تلاش برای یافتن مارکرهای جدید جهت غربالگری سندروم داون ادامه یافت تا اینکه در سال ۱۹۹۸ ارزش

به عنوان واجدین شرایط برای انجام روش های تشخیصی محسوب می‌گردند.

تفاوت روش های غربالگری و تشخیصی در این است که در یک تست تشخیصی، یک نتیجه مثبت به معنای وجود قطعی بیماری یا وضعیتی خاص است. اما در یک تست غربالگر، هدف ارزیابی ریسک وجود بیماری یا یک وضعیت خاص می‌باشد. بنابراین یک نتیجه مثبت افزایش ریسک را نشان می‌دهد ولی یک

نتیجه منفی نمی‌تواند تضمین برای عدم بروز آن باشد. روشهای تشخیصی بر خلاف روش های غربالگری معمولاً پر هزینه، وقت گیر و بعضاً پر خطر هستند اما نتایج دقیق تری به همراه دارند.

به کار بردن تستهای تشخیصی در مورد زنان بالای ۳۵ سال تنها ۲۰ درصد موارد سندروم داون را آشکار خواهد کرد. از آنجا که انجام آزمایش های تشخیصی برای همه زنان باردار کاری

بسیار مشکل و تقریباً غیر ممکن است، امروزه با استفاده از روش های

غربالگری موارد دارای ریسک بالا را از موارد کم خطر جدا کرده و مورد آنها آنتی بایوتیک می‌دهند.

بروز سندروم داون با سن مادر ارتباط مستقیم دارد به طوری که خطر تولد

نوزادان مبتلا به سندروم داون در مادران تا سن ۳۰ سالگی تقریباً ثابت بوده و حدود ۱ در ۱۰۰۰ می‌باشد و از آن پس به صورت تصاعدی افزایش می‌یابد به طوری که در سن ۳۵ سالگی ۱ در ۲۵۰

و در سن ۴۰ سالگی ۱ در ۷۵ می‌شود. با این حال ۸۰٪ موارد سندروم

داون در زنان زیر ۳۵ سال بروز می‌کند زیرا تعداد بارداری در این سنین بسیار بیشتر است.

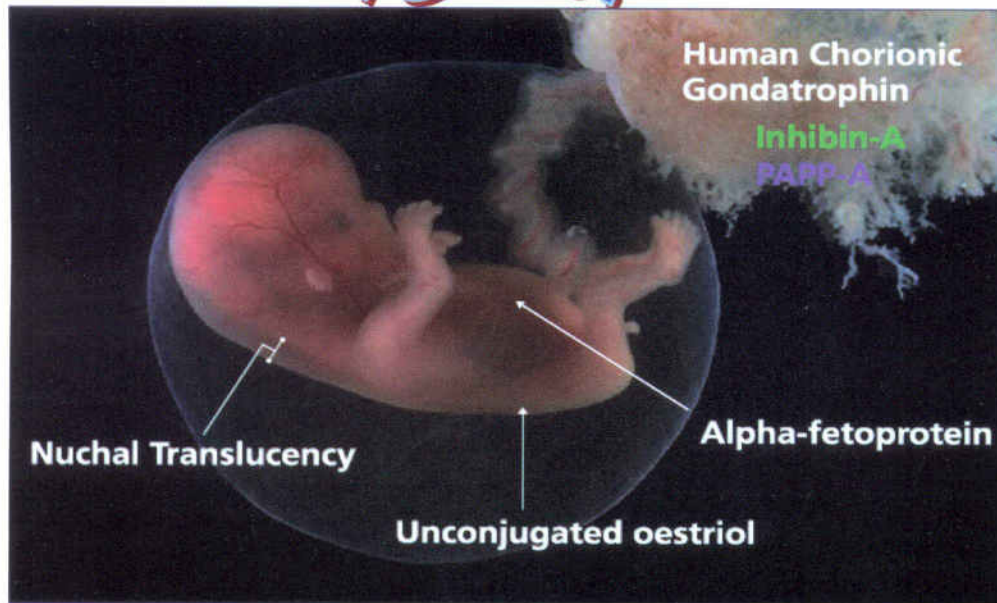
زنانی که در بارداری های قبلی دارای فرزند مبتلا به سندروم داون بوده اند نیز در معرض خطر بیشتری قرار دارند. تاثیر عوامل دیگری همچون سن پدر، سابقه ابتلا در اقوام درجه ۲ و ۳، تشعشعات محیطی و غیره هنوز به طور کامل به اثبات نرسیده است.

تست غربالگری باید کم هزینه و بی خطر باشد و بتوان آن را بر روی جمعیت زیادی به کار برد.

در هر برنامه غربالگری باید حداقل موارد مثبت کاذب در کنار حداقل موارد منفی کاذب وجود داشته باشد.

تصمیم گیری در مورد اینکه یک تست غربالگری و یا تشخیصی در دوران بارداری انجام شود کاملاً شخصی است.

آزمایشگاه پزشکی پارسه



اندازه گیری مارکر
Inhibin A در
خون مادر برای
ارزیابی ریسک
سندروم داون اثبات
گردید. با اضافه
کردن این مارکر به
تست تریپل مارکر،
تست غربالگری
جدیدی موسوم به
تست کوآد
مارکر (کوآدراپل
مارکر) ابداع گردید.
میزان تشخیص
تست کوآدمارکر
برای سندروم داون

خوانده می شود و میزان تشخیص آن برای سندروم داون به ۸۵٪
کاهش می یابد. از آغاز قرن بیست و یکم نیز تلاشهای فراوانی برای
یافتن سایر مارکرها با ارزش در غربالگری سندروم داون صورت
پذیرفت که منجر به یافتن چند مارکر جدید و در پی آن ابداع چند
روش نوین برای غربالگری سندروم داون گردید.

۷۷٪ است. در سال ۲۰۰۱ تست اینتگریتد یا «یکپارچه» که متشکل
از مارکرها NT و PAPP-A در سه ماهه اول و مارکهای تست
کوآد مارکر در سه ماهه دوم معرفی شد. میزان تشخیص این روش
برای سندروم داون حدود ۹۲٪ است. در صورتی که اندازه گیری
NT از غربالگری اینتگریتد حذف شود تست جدید سرم اینتگریتد

1980	Screening based on maternal age only
1984	AFP was added (low level, increased risk)
1988	Triple test (AFP, hCG and uE3) was created by N. Wald and H Cuckle
1992	Nuchal translucency an US marker was introduced
1996	Quadruple test in the second trimester
1997	Combined test in the first trimester (NT, PAPP-A, F-βhCG)
2001	Integrated test (1 st and 2 nd trimester)

ثانیا "سطح آنها در جمعیت نرمال و جمعیت دچار اختلال متفاوت
باشد. بررسی مارکهای غربالگری الزاماً نباید با انجام آزمایش توام
باشد. به عنوان مثال سن مادر که در گذشته به عنوان یک مارکر
برای غربالگری سندروم داون به کار می رفت، به خودی خود و بدون
نیاز با انجام آزمایش، دو گروه پر خطر و کم خطر را از یکدیگر جدا

ویژگی های یک مارکر مناسب برای غربالگری

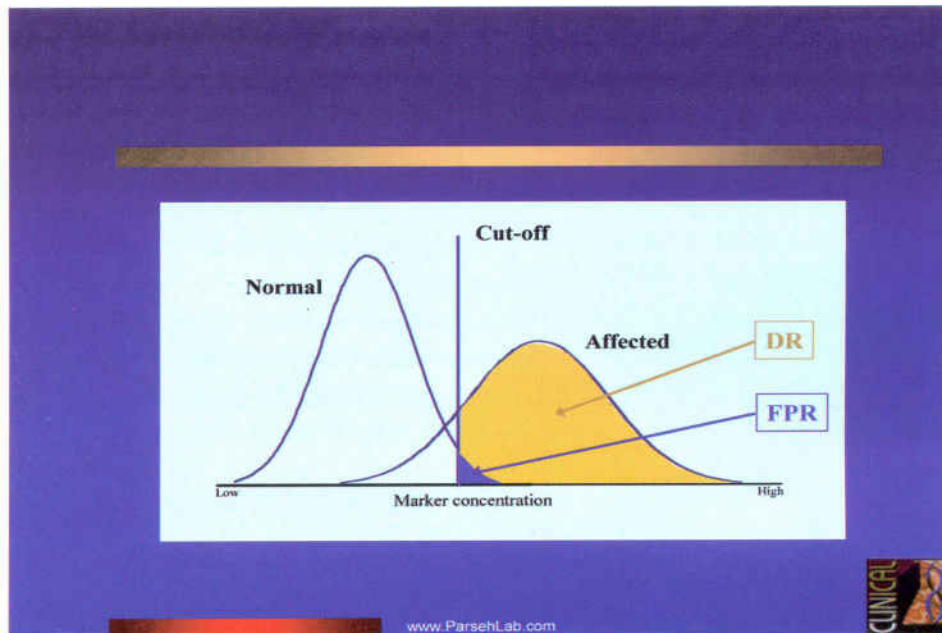
اساس غربالگری بر اندازه گیری مارکهای استوار است
که اولاً با وجود یک اختلال در جمعیت مورد مطالعه مرتبط باشند و

آزمایشگاه پزشکی پارسه

چنانچه یک مارکر فرضی با کارآمدی ۱۰۰٪ داشته باشیم، از آنجا که توزیع سطح این مارکر در دو جمعیت نرمال و غیر نرمال هیچگونه همپوشی با یکدیگر ندارد اگر میزان این مارکر از سطح تفکیک کننده (cut off) بیشتر باشد نشان دهنده غیر نرمال بودن وضعیت و در صورتی که از سطح تفکیک کننده کمتر باشد نشانگر نرمال بودن وضعیت است. میزان تشخیص این مارکر فرضی تقریباً ۱۰۰٪ است. البته مارکر مفروض مزبور در حال حاضر برای سندروم داون وجود ندارد، اما مارکرهای متعددی هستند که سطح آنها در دو جمعیت مادران دارای جنین نرمال و مادران دارای جنین مبتلا به سندروم داون متفاوت است با وجودی که توزیع سطح این مارکرها در دو جمعیت سالم و مبتلا به یکدیگر همپوشی دارد.

می کرد، گرچه این مارکر میزان تشخیص اندکی برای سندروم داون داشت (۲۰٪) به دلیل اینکه ۸۰٪ از جنین های مبتلا به سندروم داون از مادران زیر ۳۵ سال متولد می شوند. زمانی به یک مارکر، مارکر غربالگری مناسب اطلاق می شود که دارای دو ویژگی اصلی زیر باشد:

- میزان آن در دو جمعیت نرمال و غیر نرمال متفاوت باشد (در اینجا سطح سرمی مارکر در مادران دارای جنین نرمال و مادران دارای جنین مبتلا به سندروم داون).
- بتواند با دقت زیاد، در سطح گسترده و با هزینه قابل قبول (مناسب) اندازه گیری شود. به عبارت دیگر کارآمد و مقرون به صرفه باشد. هرچه سطح یک مارکر در دو جمعیت نرمال و غیر نرمال اختلاف بیشتری داشته باشد، مارکر کارآمدتری محسوب می شود.



شکل شماره ۲: توزیع یک مارکر با همپوشانی نسبتاً زیاد

کاذب هنگام قضاوت در مورد وجود یا عدم وجود سندروم داون بر اساس سطح مارکر نیز می شود.

بر این مبنا در پروتکل های غربالگری سندروم داون همواره تلاش بر آن بوده است تا از ترکیب مارکرها استفاده شود. هنگام قضاوت برسر وجود یا عدم وجود یک اختلال در پروتکل های غربالگری، هر چه از مارکرهای بیشتری استفاده شود (مشروط بر اینکه مارکرهای مناسب را داشته باشیم) میزان تشخیص تست افزایش می یابد. به همین دلیل میزان تشخیص تریپل مارکر به AFP بیشتر بوده و به همین دلیل نیز میزان تشخیص کوآدمارکر نسبت به تریپل مارکر بیشتر است.

به عنوان مثال تصویر شماره دو، توزیع مارکر hcG در دو جمعیت مادران دارای جنین نرمال و مادران دارای جنین مبتلا به سندروم داون را نشان می دهد. همان گونه که مشاهده می شود توزیع سطح این مارکر در جمعیت مبتلا بیشتر از جمعیت نرمال است. این مارکر به تنهایی مارکر مناسبی برای غربالگری سندروم داون نیست، بدین دلیل که توزیع سطح آن در دو جمعیت نرمال و مبتلا همپوشی زیادی دارد. این بدان معنی است که سطح hcG در بسیاری از موارد، در دو جمعیت نرمال و مبتلا تفاوت معناداری ندارد و تنها در صورتی که سطح آن بسیار زیاد و یا بسیار کم باشد می تواند دو جمعیت را با میزان تشخیص قابل قبولی از یکدیگر جدا سازد این همپوشی همچنین باعث بروز موارد مثبت کاذب و منفی

آزمایشگاه پزشکی پارسه

سطح ۱- تنه‌ای غربالگری (غیرتهاجمی) برای خانم‌های باردار:

آزمایشات غربالگری برای برخی زنان حامله انجام می‌شود. این روش‌ها، غیرتهاجمی نامیده می‌شود زیرا خطر قابل توجهی برای مادر و جنین به وجود نمی‌آورند. این گونه بررسی‌ها شامل نمونه‌گیری از خون مادر و انجام سونوگرافی می‌باشند.

الف) آزمایش خون: غربالگری خون مادر با اندازه‌گیری چند هورمون جهت تعیین درصد ریسک حاملگی یا وجود جنین بیمار انجام می‌شود. این آزمایشات به ترتیب در سه ماهه اول حاملگی و در سه ماهه دوم و تعیین ضریب خطر انجام می‌شود. این گونه آزمایشات خون، تشخیصی نبوده بلکه فقط برای تعیین درصد ریسک جنین مبتلا به بیماری انجام می‌گردد.

آزمایش غربالگری و تشخیصی برای تشخیص سندروم داون، تریزومی ۱۸ و بیماری‌های

لوله عصبی:

بیشتر نوزادان سالم به دنیا می‌آیند و فقط تعداد کمی (۴٪) از آنان دچار اختلال می‌باشند. برای تشخیص برخی از اختلالات آزمایشهای غربالگری و تشخیصی انجام می‌شود. این آزمایش‌ها در دو سطح در زنان باردار انجام می‌شود:
سطح ۱- غربالگری و تخمین میزان ریسک تولد نوزاد بیمار با روش‌های غیرتهاجمی در زنان باردار انجام می‌شود.
سطح ۲- آزمایشات تشخیصی و تخصصی فقط برای زنان بارداری که در آزمایش‌های غربالگری غیرتهاجمی، پرخطر (High Risk) تعیین شده‌اند انجام می‌گردد.

سن مادر: هرچه سن خانم باردار بالا می‌رود ریسک داشتن نوزاد با سندروم داون نیز بیشتر میشود

۱۲-۱۱ حاملگی تشکیل می‌شود. این بررسی‌ها خطر وجود اختلال در جنین را تخمین می‌زنند. در این آزمایش‌ها شاخص‌های زیر در خون مادر اندازه‌گیری می‌شود:

۱- غربالگری سه ماهه اول حاملگی: این مجموعه آزمایشات تلفیقی هستند و از یک آزمایش خون در هفته ۱۰-۱۲ حاملگی (ترجیحاً هفته دهم) همراه با سونوگرافی به منظور بررسی Nuchal Translucency در هفته

Free β hCG سبب یونیتی از **Total hCG** است که بالا رفتن مقدار آن در خون مادر نشانگر ریسک بالای سندروم داون می‌باشد.

PAPP-A (Pregnancy Associated Plasma Protein A) از جفت تولید شده و برای نگهداری تخمک تازه لقاح یافته (بارور شده) مورد نیاز است. در سندروم داون مقدار **PAPP-A** در سه ماهه اول حاملگی تا حدی کاهش می‌یابد.
ITA (Invasive trophoblast antigen) فرمی از **hCG** است که هایپرگلیکوزیله شده و در طی لانه‌گزینی جنین و تهاجم سلول‌های تروفوبلاست به دیواره رحم از سلول‌های **Cytotrophoblast** ترشح می‌شود. در سندروم داون مقدار آن افزایش می‌یابد. این هورمون می‌تواند در غربالگری سه ماهه اول جایگزین **hCG** شود.

استفاده می‌شود. زمان این آزمایش هفته ۲۲-۱۴ حاملگی می‌باشد (ترجیحاً هفته ۱۵) در این آزمایشات پنج مارکر خون مادر اندازه‌گیری می‌شود که شامل:

۲- غربالگری سرم در سه ماهه دوم حاملگی: محققان برای یافتن ضریب اطمینان بیشتر آزمایش‌های جدیدی به موارد قبلی اضافه می‌کنند. تا چندی پیش از غربالگری **Quad Screen Triple** و جدیداً از **Penta Screen**

AFP (Alpha-Fetoprotein) ماده ایست که از کبد نوزاد تولید می‌شود و مقداری از آن در مایع آمنیوتیک و جریان خون مادر مشاهده می‌شود. مقدار این هورمون تا هفته ۱۲ حاملگی بالا رفته و پس از آن بتدریج تا تولد نوزاد پایین می‌آید، در سندروم داون **AFP** کم می‌شود. در حاملگی‌هایی که جنین دچار مشکلات لوله عصبی است مقدار **AFP** به دلیل درست عمل نکردن پوست جنین در خون مادر افزایش می‌یابد.

آزمایشگاه پزشکی پارسه

uE3 (Unconjugated Estriol) یک نوع استروژن می باشد که در متابولیسم نوزاد در کبد، آدرنال و جفت تولید می شود مقداری از آن در خون مادر و در مایع آمنیوتیک مشاهده می گردد. مقدار این پروتئین تقریباً از هفته ۸ تا کمی قبل از تولد نوزاد بالا می رود. در سندروم داون مقدار uE3 در خون مادر کاهش می یابد.

hCG (Human Chorionic Gonadotropine) از جفت تولید می شود و مقدار آن در خون مادر، در سه ماهه اول حاملگی بالا می رود و بعد کم کم تا پایان حاملگی کم می شود. در سندروم داون مقدار hCG از حد معمول بیشتر می شود. ($MOM\ hCG > 1$)

DIA (Dimeric Inhibin-A) هورمونی است که از جفت بصورت دایمر تولید می شود و مانع افزایش FSH می شود. مقدار این هورمون در خون مادر در هفته ۲۰-۱۵ ثابت بوده و دوباره بالا می رود. در سندروم داون مقدار DIA از حد طبیعی بالاتر می رود.

ITA (Invasive Trophoblast Antigen) فرم هایپرگلیکوزیله hCG است و در طی لانه گزینی جنین و تهاجم سلولهای تروفوبلاست به دیواره رحم از سلول های Cytotrophoblast ترشح می شود. مقدار ITA در سندروم داون تا حدی بالا رفته و اندازه گیری ITA در کنار دیگر مارکر ها درصد خطا را پائین می آورد.

شده و از طریق کلیه دفع می شود. میزان استریول آزاد تا اواخر بارداری افزایش می یابد.

کونادوتروپین کوریونیک انسانی (HCG - β):

HCG اولین محصول قابل اندازه گیری جفت است و در هفته های اول بارداری غلظت آن تقریباً هر روز دو برابر می شود و در هفته های ۱۰ تا ۱۲ بارداری به حدود ۱۰۰۰۰ mIU/mL می رسد و سپس تا اواخر بارداری رو به کاهش می گذارد، به نحوی که در سه ماهه سوم بارداری به حدود ۱۰۰۰ mIU/mL می رسد. غلظت HCG در گردش خون جنین کمتر از ۱٪ مقدار آن در گردش خون مادر است. مطالعات مختلف نشان داده است که HCG خون جنین اهمیت فراوانی در تکامل آدرنال و غونادهای جنین در سه ماهه دوم بارداری دارد.

Inhibin A:

Inhibin A یک گلیکوپروتئین مترشحه از جفت است و از دو زیر واحد A و B تشکیل شده است. سطح آن در هفته های ۱۵ تا ۲۰ حاملگی تقریباً ثابت بوده و بعد از آن با شیب بسیار کم تا اواخر بارداری افزایش می یابد. در جنین های مبتلا به سندروم داون سطح آن افزایش یافته و به طور متوسط به دو برابر مقدار آن در جنین های سالم می رسد و بر عکس در جنین های مبتلا به تریزومی ۱۸ مقدار آن کاهش می یابد.

در حالی که سطح سرمی آلفا فتو پروتئین، استریول غیر کونژوگه، β -HCG و Inhibin A با بروز سندروم داون مرتبط است، اما هر یک از ماکرهای مزبور به تنهایی قدرت تفکیک کنندگی زیادی ندارند و استفاده همزمان از هر چهار مارکر است که در تعیین ریسک سندروم داون اهمیت فراوانی می یابد.

تست کواد مارکر و پنتا مارکر بیشترین قدرت تفکیک افراد با ریسک بالا را بین هفته های ۱۵ تا ۱۸ بارداری دارد، زیرا در این دوره میزان افزایش یا کاهش هر یک از عناصر تست در خون مادر کم است و بروز خطا در حد چند روز در تعیین سن بارداری مادر

تاثیر زیادی روی نتیجه آزمایش بر جای نمی گذارد (تعیین دقیق سن

بارداری اهمیت فراوانی در صحت انجام تست کواد مارکر دارد).

روش محاسبه و اصلاح MoMs

از طرفی اختلاف مقادیر این چهار پارامتر در بین افراد نرمال و مبتلا، به بیشترین حد خود می رسد. زمانی که میزان دقیق آلفا فتو پروتئین، استریول غیر کونژوگه، β -HCG و

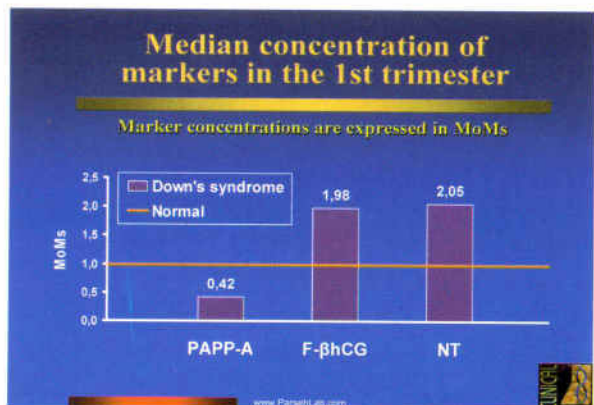
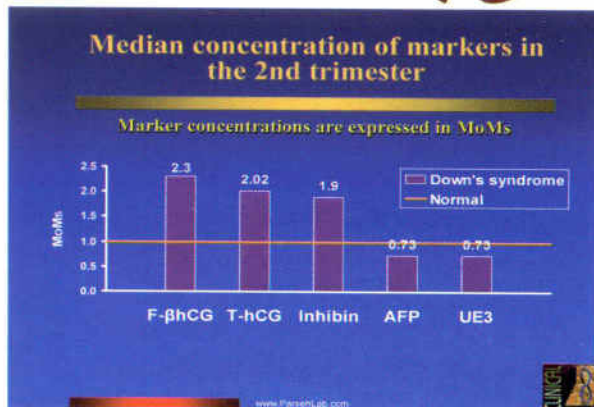
آلفا فتو پروتئین:

آلفا فتو پروتئین یک انکوفتال پروتئین است که ساختمان آن شبیه آلبومین بوده و ابتدا در کیسه زرده و سپس در کبد جنین سنتز می شود. مقداری از آلفا فتو پروتئین سنتز شده از طریق جفت وارد گردش خون مادر می شود. میزان این ماده تا اواخر سه ماهه دوم بارداری افزایش می یابد و پس از آن رو به کاهش گذاشته و جای خود را به آلبومین می دهد.

استریول غیر کونژوگه:

استریول غیر کونژوگه در جفت، کبد و آدرنال جنین سنتز می شود. کلتسترول (با منشا خون مادر) در آدرنال جنین به پرگنولون و سپس به DHEA تبدیل می شود. DHEA آنگاه در کبد جنین هیدروکسیله شده و به ۱۶- هیدروکسی DHEA تبدیل می شود. ترکیب اخیر به استریول آزاد تبدیل شده و وارد گردش خون می گردد. این ترکیب در کبد مادر با گلوکوکورونید کونژوگه

آزمایشگاه پزشکی پارسه



در صورتی که MoMs اصلاح نشود ریسک صحیحی برای بارداری دست نخواهد آمد.
 نکته بسیار مهم دیگر در مورد MoMs این است که بدست آوردن
 MoM برای یک بیمار باید با استفاده از مدین های همان جاسد صورت پذیرد و اگر
 از مدین های جواس دیگر استفاده شود ریسک صحیحی برای سندروم داون محاسبه نخواهد

شد. به همین دلیل نمی توان از مدین های به دست آمده در
 کشورهای اروپائی و آمریکائی برای تعیین MoM در ایران
 استفاده کرد. از آنجا که میزان هر چهار پارامتر مزبور در روزها و
 هفته های مختلف بارداری تغییر می یابد بنابراین برای به دست
 آوردن MoM صحیح باید سن دقیق بارداری مشخص شود.
 سونوگرافی دقیق ترین روش برای تخمین سن بارداری است و
 حساسیت (قدرت تکفیک) پروفایل غربالگری را ۳٪ تا ۴٪ افزایش

Inhibin A در خون مادر اندازه گیری شد، این مقادیر با میانه های جمعیت در آن سن بارداری خاص مقایسه شده و نتایج به صورت **MoM (Multiple of Median)** نشان داده می شود: (میانه آن هفته از بارداری / میزان به دست آمده برای بیمار = MoM)

احتمال وجود تریزومی ۲۱ از روی محاسبات آماری انجام شده بر روی **MoMs**، سن بیمار و پارامترهای دیگر محاسبه می شود. نرم افزارهای ویژه ای برای این منظور طراحی شده است که ریسک بیمار را به صورت عددی و نیز منحنی های خاص نشان می دهند. در بارداری های متأثر از سندروم داون، سطح سرمی **β-HCG** و **Inhibin A** بیشتر از میانه ($MoM > 1$) و سطح سرمی دو مارکر دیگر یعنی آلفا فتو پروتئین و استریول غیر کونژوگه کمتر از میانه است ($MoM < 1$). مطالعات مختلف MoM های مختلفی را برای چهار مارکر مزبور در سندروم داون ذکر کرده اند ولی به طور کلی **HCG MoM** و **Inhibin MoM** حدود ۲ تا ۳ و **MoM** آلفا فتو پروتئین و استریول غیر کونژوگه نیز حدود ۰/۴ تا ۰/۸ است. لازم به ذکر است که هر چه **Inhibin MoM** و **HCG MoM** بزرگتر از ۱ و **MoM** آلفا فتو پروتئین و استریول غیر کونژوگه کوچک تر از ۱ باشد ریسک بیشتری برای سندروم داون مطرح می شود.

MoMs به دست آمده از نتایج آزمایش بیمار، **MoMs** خام هستند و باید با در نظر گرفتن پارامترهایی همچون وزن، مصرف سیگار، دیابت، بارداری از طریق **IVF**، بارداری دو قلو و غیره اصلاح شوند تا **MoMs** تصحیح شده به دست آید و سپس در محاسبات آماری مورد استفاده قرار گیرد. به عنوان مثال اگر وزن بیمار زیاد باشد، به دلیل اینکه عناصر تست در مقدار پلاسماي بیشتری رقیق می شوند، سطح آنها به طور کاذب پایین تر از مقدار واقعی به دست می آید و تمامی **MoMs** باید با ضریبی بیشتر از ۱ اصلاح شوند و در صورتی که وزن بیمار پایین تر باشد ضریب مربوط کمتر از ۱ خواهد بود. مصرف سیگار **HCG MoM** را حدود ۲۲٪ و **uE3 MoM** را حدود ۳٪ و **PAPP-A MoM** را حدود ۱۵٪ افزایش داده و **AFP MoM** را حدود ۳٪ کاهش می دهد. در بیماران دیابتیک از آنجا که سطح آلفا فتو پروتئین و **HCG** پایین تر از افراد طبیعی است باید **MoM** آلفا فتو پروتئین حدود ۲۲٪ و **HCG MoM** حدود ۵۰٪ افزایش یابد. بارداری دو قلو تمام **MoM** ها را تقریباً دو برابر می کند.

آزمایشگاه پزشکی پارسه

پارامتر همیشه نسبت مستقیم وجود دارد یعنی هر چه میزان تشخیص را بالا ببریم میزان موارد مثبت کاذب هم افزایش می یابد ولی از آنجا که وجود یک تست مثبت کاذب در یک خانم باردار منجر به نگرانی شدید وی (تا زمانی که تست آمنیو سنتز انجام شود) و لاجرم سبب بی اعتمادی بیمار به طرح های غربالگری پیش از زایمان می شود، بنابراین باید تعادل بین میزان تشخیص و موارد مثبت کاذب را به دقت رعایت کرد. بنابراین برای تعیین ریسک تفکیک کننده در تستهای غربالگری سلامت جنین، بسته به اینکه چه میزان تشخیصی مورد نظر است و برنامه غربالگری از نظر شرایط اقتصادی - فرهنگی توانایی مواجهه با چه مقدار موارد مثبت کاذب را دارد، ریسک تفکیک کننده را می توان کم یا زیاد کرد. باید دقت نمود که بالا بردن ریسک تفکیک کننده، باعث کاهش موارد کاذب می شود ولی از سوی دیگر

میزان تشخیص تست نیز کم خواهد شد. *با دقت کمتر کم میزند*

عوامل فوق، ریسک کمترین کننده ۲۵:۱۰۰ نظر گرفته می شود که

موارد مثبت کاذب آن ۵% و میزان تشخیص آن به حدود ۸۰% می رسد که برای همین مقدار موارد مثبت کاذب (۰.۵)،

میزان تشخیص کوادمارک حدود ۱۲-۸% بیشتر از میزان تشخیص ترپل

ماکر است.

می دهد. در سونوگرافی برای تعیین سن جنین معمولاً از دو اندازه گیری CRL و BPD استفاده می شود. در صورتی که بیمار سونوگرافی نشده باشد به ناچار باید از LMP برای تخمین سن بارداری استفاده کرد. انجام سونوگرافی از یک نظر دیگر نیز اهمیت دارد و آن اطمینان از زنده بودن جنین است. در صورتی که جنین زنده نباشد تمامی پارامترها کاهش یافته و ریسک اشتباه محاسبه می شود.

چه ریسکی باید به عنوان ریسک بالا تلقی کرد؟

پیش از تعریف ریسک تفکیک کننده باید با دو اصطلاح دیگر آشنا شویم.

(۱) **میزان تشخیص (Detection Rate=DR):** میزان تشخیص نشان دهنده قدرت یک تست در تشخیص تمامی موارد یک بیماری است و هر چند مقدار آن بیشتر باشد گویای این مطلب است که تعداد بیشتری از موارد بیماری توسط تست تشخیص داده می شود. برای مثال اگر میزان تشخیص یک تست ۸۵٪ باشد این بدان معنی است که از هر ۱۰۰ نفر مبتلا به بیماری ۸۵ نفر با استفاده از تست مورد نظر تشخیص داده خواهد شد.

(۲) **میزان مثبت کاذب (False Positive Rate=FPR):** مثبت کاذب به مواردی اطلاق می شود که نتیجه تست مثبت است اما شخص، بیمار نیست. برای مثال اگر مثبت کاذب یک آزمایش ۱۰٪ باشد به معنای آن است که از ۱۰۰ نفری که آزمایش شده اند، ۱۰ نفر در عین حالی که بیمار نیستند نتیجه آزمایش مثبت خواهند داشت. بین این دو

غربالگری سه ماهه اول بارداری (First Trimester Screening)

گیری ها با سونوگرافی خاصی انجام می شود که به آن اندازه گیری NT می گویند و دیگری آزمایش هایی است که روی خون مادر انجام می شود.

در غربالگری سه ماهه اول بارداری دو نوع اندازه گیری به همراه سن مادر مورد استفاده قرار می گیرد تا ریسک سندروم داون، تریزومی ۱۸ و تریزومی ۱۳ محاسبه شود. یکی از این اندازه

اندازه گیری NT در سونوگرافی

اندازه گیری NT به وسیله سونوگرافی خاصی که از ابتدای هفته ۱۱ تا انتهای هفته ۱۳ بارداری قابل انجام است، صورت می پذیرد. در این نوع سونوگرافی مقدار مایع در پشت گردن جنین که به آن NT می گویند، اندازه گیری می شود. تمام جنین ها در این قسمت دارای مقداری مایع هستند که این مقدار در جنین های مبتلا به سندروم داون افزایش دارد. سونوگرافی NT همچنین:

- زنده بودن جنین را تایید می کند.
- سن بارداری را تایید می کند.
- بارداری های دوقلو را تشخیص می دهد.

آزمایشگاه پزشکی پارسه

• آن دسته از اختلالات هنگام تولد را که در این سن بارداری قابل تشخیص هستند، بررسی می کند.

آزمایش خون مادر

غربالگری سه ماهه اول تستی است که برای بررسی اختلالات کروموزومی و اختلالات هنگام تولد انجام می شود. این تست در فاصله هفته های ۱۱ تا ۱۳ بارداری به تمامی زنان باردار توصیه می گردد!

در آزمایش خون مادر سطح دو ماده که معمولا در خون تمامی زنان باردار یافت می شود مورد اندازه گیری قرار می گیرد: PAPP-A و Beta HCG آزاد. در بارداری های توام با ابتلاء جنین به سندروم داون مقدار دو ماده مزبور بیش از مقدار مورد انتظار می باشد.

نتایج حاصل از غربالگری سه ماهه اول

نتایج حاصل از غربالگری سه ماهه اول به ما می گوید که به چه احتمالی بارداری توام با سندروم داون، تریزومی ۱۸ ویا تریزومی ۱۳ خواهد بود که در گزارش غربالگری به آن ریسک ابتلاء گفته می شود.

نتایج غربالگری سه ماهه اول به پزشک می گوید که تست های تشخیصی نظیر آمنیوسنتز برای مادران بارداری که ریسک ابتلا جنین آنها کمتر از نرمال می باشد، به انجام تست های تشخیصی منتفی است، اما به زنانی که ریسک سندروم داون، تریزومی ۱۸ و تریزومی ۱۳ جنین آنان بیش از میزان نرمال باشد، انجام تست های تشخیصی نظیر آمنیوسنتز پیشنهاد می شود. صرف نظر از سن مادر و یا نتایج غربالگری سه ماهه اول، تصمیم به انجام تست های تشخیصی، تصمیمی کاملا شخصی است.

میزان تشخیص غربالگری سه ماهه اول بارداری برای سندروم داون حدود ۸۵٪ است و این بدان معنا است که حدود ۸۵٪ جنین های مبتلا به سندروم داون با این آزمایش قابل تشخیص هستند.

تست های تشخیصی

تمامی زنان باردار پیشنهاد نمی گردد زیرا احتمال سقط جنین را بالا می برند، با وجود این اکثر زنانی که تست های تشخیصی را انجام می دهند دچار سقط یا دیگر عوارض ناشی از تست های مزبور نمی شوند و در عمل نتایج تست ها به زنان باردار آرامش وطمینان خاطر زیادی می بخشد.

تست های تشخیصی نمونه برداری از پرزهای جفتی و آمنیوسنتز را شامل می شود. نمونه های گرفته شده برای انجام این تست حاوی سلول های جنین است. آزمایشگاه با انجام تست هایی به روی این سلول ها در می یابد که آیا جنین به اختلالات کروموزومی مبتلا است یا خیر. انجام آزمایش های تشخیصی به طور معمول به

مزایای غربالگری سه ماهه اول

- انجام غربالگری دقیق تر و زودتر، که باعث ایجاد آرامش خاطر در بسیاری از زنان می شود.
- با انجام سونوگرافی NT امکان تشخیص بعضی از اختلالات بارز هنگام تولد وجود دارد.
- محدودیت های غربالگری سه ماهه اول
- حدود ۵٪ (۱ نفر در هر ۲۰ نفر) از زنانی که این غربالگری روی آنان انجام می شود، به عنوان ریسک بالا مشخص می شوند. اما در عین حال اکثر زنانی که ریسک بالادارند بچه های نرمال به دنیا می آورند (OAPR 1 in 23).
- برای تست های تشخیصی رایج باید تا سه ماهه دوم بارداری منتظر ماند.
- غربالگری اختلالات لوله عصبی جنین با این تست قابل انجام نیست و باید تست تریپل یا کوآد مارکر یا پنتا مارکر در سه ماهه دوم بارداری انجام شود.

آزمایشگاه پزشکی پارسه

اطلاعات ناقص درصد تعیین ریسک را تحت تاثیر قرار می دهد

در بعضی مواقع CVS از طریق واژن انجام می شود (درصد سقط بعد از CVS ۱٪ می باشد).

آمینوستنتز

آمینوستنتز یک روش نمونه برداری سرپائنی از مایع آمنیوتیک می باشد و در سه ماهه دوم حاملگی بین هفته ۱۵-۱۸ انجام می گردد. در حین انجام سونوگرافی با داخل کردن یک سوزن نازک به داخل شکم مادر مقداری از مایع آمنیوتیک گرفته می شود. ریسک سقط جنین پس از آمینوستنتز ۱/۲۰۰ می باشد.

Cordocentesis: Percutaneous Umbilical Blood Sampling

کوردوسنتز یک تست تشخیصی از خون جنین است و برای شناسایی مشکلات جنین انجام می شود. در این آزمایش در جوار سونوگرافی سوزن نازکی از قسمت تحتانی شکم مادر به ناحیه اتصال بند ناف به جفت وارد شده و مقدار کمی خون جنینی گرفته می شود. این آزمایش زمانی انجام می شود که نتایج بدست آمده از CVS، سونوگرافی و دیگر آزمایشات خون مادر غیر قابل نتیجه گیری باشند. از طریق این آزمایش مشکلات کروموزومی و مشکلات خون مورد مطالعه قرار می گیرد. همچنین خون جنین برای تشخیص بعضی از مشکلات از جمله عفونت توکسوپلاسموز و یا سرخچه و کم خونی جنین مورد بررسی قرار می گردد. تفاوت این آزمایش با آمینوستنتز در این است که از طریق این آزمایش می توان مشکلات لوله عصبی را بررسی کرد.

(Quantitative Fluorescent Polymerase Chain Reaction) QF-PCR

آزمایش جدیدی است که بجای کشت سلول های مایع آمنیوتیک و یا خون جنین برای بررسی کروموزومها و آنومالیها در طی ۲۴ ساعت انجام می گردد. در این آزمایش با کمک یک جفت پرایمر طراحی شده قسمت بخصوصی از Specific DNA Sequence به طور تکراری تقویت شده و این قسمت کوچک به صورت یک منحنی نشان داده می شود. این آزمایش برای تشخیص مشکلات کروموزومی از جمله سندروم داون، ادوارد سندروم (Trisomy 18)، سندروم پاتسا (Trisomy 13)، سندروم ترنر (Monosomy XO)، سندروم کلین فلتر (XXXYY) و دیگر مشکلات کروموزومی (XXX,YYY) استفاده می شود. در این تست فقط ۱ml مایع آمنیوتیک و یا یک قطره خون جنین نیاز می باشد.

ب) سونوگرافی سه ماهه اول و دوم حاملگی

سونوگرافی سه ماهه اول عمدتاً بررسی nuchal (NT) translucency ultrasound و در هفته ۱۳-۱۱ حاملگی انجام می شود که طی آن مقدار مایع جمع شده پشت پوست گردن جنین nuchal translucency اندازه گرفته می شود و مقدار بیشتر از حد طبیعی آن می تواند میزان ریسک نوزاد به سندروم داون و دیگر مشکلات کروموزومی را افزایش دهد. نتیجه سونوگرافی همراه با جواب آزمایش خون سه ماهه اول تعیین کننده ریسک بیماری جنین می باشد. در صورت بالا بودن ریسک جنین به مادر پیشنهاد انجام یک آزمایش تشخیصی (CVS) و یا آمینوستنتز) می شود. سونوگرافی در سه ماهه دوم و یا اسکن جنین غیر طبیعی (anomaly) در هفته ۲۰-۱۸ حاملگی انجام می گردد.

ط ۲- تستهای تشخیصی (تباختی) در شرایط خاص انجام میگردد

این تست ها احتمال ضعیف سقط جنین را به همراه دارند. تستهای تشخیصی در شرایط زیر به مادر پیشنهاد می شوند.

- سن مادر ۳۷ سال و یا بیشتر باشد.
- وجود یک بیماری در خانواده و یا اقوام نزدیک.
- سونوگرافی آنومالی را نشان دهد.

برای انجام آزمایشات تشخیصی از بافت جفت، مایع آمنیوتیک و یا خون جنین نمونه گیری می شود. نمونه گرفته شده برای انجام تست کروموزومی بیماری هایی از جمله سندروم داون و یا تست DNA برای بیماری هایی مثل سیستمیک فیبروزیس (CF) استفاده می شود زمان لازم برای انجام اینگونه آزمایشات حداقل دو هفته می باشد در صورت انجام Fluorescent in situ (FISH) Hybridization و یا QF-PCR می توان نتایج را ۲۴ تا ۴۸ ساعت بعد از نمونه گیری تهیه نمود.

در صورت تمایل مادر تست تشخیصی به یکی از سه روش نمونه گیری Cordocentesis, Amniocentesis, CVS انجام می گردد.

Chorionic Vilus Sampling (CVS)

CVS یک روش نمونه برداری از پرزهای جفت است و سرپایی انجام می شود و نیازی به بستری شدن بیمار در بیمارستان وجود ندارد. این آزمایش در سه ماهه اول حاملگی در هفته ۱۲-۱۱ انجام می شود. در حین سونوگرافی با داخل کردن یک سوزن ظریف به پاتین شکم مادر نمونه کوچکی از جفت گرفته می شود.

آزمایشگاه پزشکی پارسنه

ریسک بالا انجام سونوگرافی و در صورت لزوم انجام آمینو سنتز توصیه می شود.

اقدامات پس از انجام تستهای غربالگری

NTDs یا Neural Tube Defects

میزان شیوع این بیماری ۱ مورد در هر ۵۰۰ بارداری است. تست کواد مارکر حساسیت بالایی برای تشخیص NTD دارد (حدود ۸۵٪). **MoM** آلفاتوپروتئین در این بیماری معمولاً بیشتر از ۲ است و گاه تا ۱۰ نیز می رسد. توصیه شده است در مواردی که **MoM** آلفاتوپروتئین در محدوده ۲ تا ۳ قرار می گیرد حتماً تست آلفاتوپروتئین تکرار شود و **MoM** آلفاتوپروتئین جدید به دست آید اگر باز هم بالا بود حتماً بررسی سونوگرافی دقیق در مورد بیمار فوق صورت گیرد. اشتباه در محاسبه بارداری می تواند باعث گزارش ریسک بالای NTDs شود. بنابراین پس از به دست آوردن ریسک بالا باید سن بارداری مجدداً بررسی شود و در صورت اشتباه بودن بار دیگر محاسبه گردد. توجه به این نکته مهم است که اندازه گیری آلفاتوپروتئین در سه ماهه اول به هیچ عنوان اطلاعات لازم را در مورد وجود NTDs ارائه نمی دهد. در افرادی که ریسک نرمال در هر سه مورد گزارش شده است اگر **MoM** آلفاتوپروتئین بیشتر از ۱ و **MoM** استریول غیر کونژوگه کمتر از ۱ باشد احتمال بروز سقط های خود به خودی زیادتر است.

سندروم SLO یا Smith Lemli Opitz Syndrome

این بیماری دومین اختلال شایع متابولیکی با شیوع ۱ در ۲۰۰۰۰ است. بیماران مبتلا به آن دچار عقب ماندگی شدید ذهنی و ناهنجاری های چندگانه می شوند. این بیماری ناشی از کمبود و یا فقدان آنزیم ۷-دی هیدروکلاسترول ردوکتاز در مسیر انتهایی سنتز کلسترول است. از آنجا که سطح کلسترول در جنین مبتلا به سندروم SLO کاهش می یابد بنابراین هورمون های استروئیدی با منشا استریول غیر کونژوگه نیز در سرم این بیماران کاهش می یابد. تشخیص قطعی سندروم SLO از طریق اندازه گیری سطح پیش ساز کلسترول (۷-دی هیدروکلاسترول) در مایع آمنیوتیک است. انجام سونوگرافی نیز در این بیماران کمک زیادی به تشخیص این ناهنجاری مادر زادی می کند.

انجام NT تست اینتگریتد را مشکل می سازد (به دلیل محدود بودن سونوگرافی های متحرک و نیز هزینه زیاد انجام سونوگرافی NT). تست دیگری موسوم به سرم اینتگریتد معرفی شد که در آن صرفاً مارکرهای بیوشیمیایی اندازه گیری و ریسک سندروم داون بر اساس آنها محاسبه می گردد. میزان تشخیص تست سرم اینتگریتد برای سندروم داون ۸۵٪ است. اما تستهای اینتگریتد در عین حال اشکالاتی نیز دارند که از جمله آنها می توان به لزوم دوبار مراجعه کردن مادر برای انجام تست و نیز عدم اعلام نتیجه غربالگری تا انجام تستهای سه ماهه دوم بارداری اشاره کرد به عبارت دیگر این

در صورتی که تست تریپل یا کواد مارکر برای بیماری انجام شود و ریسک به دست آمده کمتر از میزان تفکیک کننده باشد، باید نتیجه تست به بیمار اطلاع داده شود و خاطر نشان گردد که ریسک سندروم داون پایین است و احتمال وجود جنین مبتلا نیست.

اما اگر ریسک به دست آمده بیشتر از میزان تفکیک کننده باشد، در صورتی که بیمار سونوگرافی نشده باشد، باید برای انجام آن ارجاع داده شود تا سن دقیق بارداری به دست آید و آنگاه ریسک ابتلا مجدداً محاسبه گردد. اگر بیمار زودتر از ۱۴ هفته جنین مراجعه کرده باشد باید پس از ۱۴ هفته جنین مجدداً مورد آزمایش قرار گیرد. در صورتی که ریسک آزمایش مجدد نیز بیشتر از ۱ در ۲۵۰ باشد، ضمن توضیح این مطلب که ریسک بالا لزوماً به معنای قطعیت وجود جنین مبتلا نیست انجام آمینو سنتز توصیه می شود. انجام آمینوسنتز در هفته های ۱۶ تا ۱۸ حاملگی دقیق ترین و قابل اعتمادترین روش برای تشخیص سندروم داون است. روش دیگر به دست آوردن سلول های جنین CVS است که در هفته های ۸ تا ۱۲ حاملگی انجام می شود و ریسک سقط جنین در این روش بیشتر از ریسک آمینو سنتز است.

نتایج تست کواد مارکر ریسک ابتلا به بیماری های دیگری را نیز به دست می دهد شامل تریزومی ۱۸ و NTDs و SLOS.

تریزومی ۱۸:

تریزومی ۱۸ یک اختلال کروموزومی شدید با شیوع ۱ مورد در هر ۸۰۰۰ بارداری است. **MoM** هر چهار پارامتر تست در این اختلال کمتر از ۱ است (بین ۰/۲ تا ۰/۸) بعضی مطالعات **HCG MoM** کمتر از ۰/۲۵ را به تنهایی بیانگر ریسک بالا تلقی می کنند. در پیگیری بیماران با ریسک بالا توجه به دو نکته مهم است:

اول آنکه بیمار حتماً برای سونوگرافی ارجاع شود تا از زنده بودن جنین مطمئن شویم چرا که در جنین مرده تمام پارامترهای فوق کاهش می یابد، و دوم اینکه اشتباه در محاسبه سن بارداری می تواند باعث افزایش ریسک شود. بنابراین در صورت وجود

تست اینتگریتد

همان طور که گفته شد در پروتکل های غربالگری هر چه از مارکرهای کار آمد بیشتری برای تعیین ریسک استفاده شود میزان تشخیص تست افزایش خواهد یافت. از این رو در سال ۲۰۰۲ تست اینتگریتد که متشکل از مارکرهای NT و PAPP-A در سه ماهه اول و مارکرهای سه ماهه دوم است معرفی گردید. میزان تشخیص این تست برای سندروم داون ۹۲٪ است. از آنجا که اندازه گیری

آزمایشگاه پزشکی پارسه

معرفی می شود و پس از انجام برای تست سه ماهه دوم (کوآد و پنتا مارکر) فراخوانده می شود و پس از انجام تست سه ماهه دوم ریسک نهائی با استفاده از تمامی مارکرها اندازه گیری شده در سه ماهه اول و دوم محاسبه می گردد. میزان تشخیص این روش در صورتی که از مارکرها تست کوآد مارکر برای انجام آن استفاده شود حدود ۹۴٪ و در صورت بهره گیری از مارکرها تست پنتا مارکر حدود ۹۷٪ خواهد بود.

کوآدراپل ابتدا مقادیر هر یک از پارامترهای ذکر شده در سرم مادر اندازه گیری شده و مقادیر بدست آمده با مدین های مربوط به هر کدام مقایسه می گردد. Median عدد میانی در توالی اعداد است و در مطالعات پزشکی در مواردی که دامنه مقادیر نرمال یک تست خیلی گسترده است (مانند میزان HCG در بارداری) کاربرد دارد.

نرم افزارهای ویژه ای طراحی شده اند که قادرند مقادیر بدست آمده را با مدین های آنها مقایسه کرده و با تصحیح کردن نتایج بر اساس وزن و وضعیت های بیولوژیک مختلف، ریسک ابتلا جنین به سندروم داون و چند اختلال دیگر را محاسبه می نمایند.

تست یک روش نانودیسکلوزر (عدم اعلام جواب تا انجام تست های سه ماهه دوم) محسوب می شود. به همین دلیل در سال ۲۰۰۵ پروتکل دیگری به نام **سیکوئنشیال اسکرینتینگ (Sequential Screening)** ابداع گردید که در آن ابتدا غربالگری سه ماهه اول با استفاده از مارکر βhCG , NT آزاد و PAPP-A انجام می شود و نتیجه به پزشک و بیمار اعلام می گردد. در صورتی که ریسک به دست آمده بیش از ۱:۵۰ باشد بیمار برای انجام تستهای تشخیصی

تست کوآدراپل

این تست شامل اندازه گیری چهار ماده شیمیایی است که حاصل جفت یا جنین بوده و در خون مادر اندازه گیری می شوند. در سال ۱۹۷۰ ابتدا اندازه گیری AFP برای غربالگری NTD مطرح شد. سپس دریافتند که کاهش AFP می تواند نشان دهنده موارد سندروم داون باشد و از آن به عنوان یک تست غربالگری استفاده کردند. در سال ۱۹۸۰ تست تریپل مارکر معرفی شد که تا چند سال قبل رایج ترین تست غربالگری سندروم داون بود. این تست شامل اندازه گیری همزمان HCG, AFP و استریول غیر کونژوگه (UE3) است.

در سال ۱۹۸۷ پس از اضافه شدن اندازه گیری Inhibin A به تریپل مارکر این تست کوآدراپل و یا کوآدمارکر نام گرفت. در تست

نشان انجام تست:

تست کوآدراپل یا کوآد مارکر از هفته ۱۴ تا ۲۲ بارداری قابل انجام است ولی هفته های ۱۵ تا ۱۸ بارداری برای رسیدن به نتایج بهتر مناسب تر است، چون تغییرات میزان هر کدام از پارامترها در خون ناچیز بوده و در نتیجه باعث بروز خطای کمتر در ریسک بدست آمده خواهد شد.

تذکره(پتااکرین)

از جدیدترین مارکرها که در سه ماهه دوم بارداری برای غربالگری سندروم داون کشف شده، مارکری به نام ITA است. اهمیت و ارزش این مارکر برای غربالگری سندروم داون اولین بار در سال ۱۹۹۹ توسط دکتر کول و همکارانش به اثبات رسید و از آن پس مطالعات کلینیکی بسیاری توسط سایر دانشمندان در نقاط مختلف دنیا در راستای اثبات کارآمد بودن این مارکر برای غربالگری سندروم داون صورت پذیرفت. تمامی مطالعات مورد اشاره موید این نکته بودند که ITA توسط سلولهای کم تمایز یافته یا سلول تروفوبلاست مهاجمی تولید می شود. تولید ITA مستقل از تولید hCG است که از سلولهای سنسیتیوتروفوبلاست ترشح می شود. سطح ITA در اوایل بارداری به سرعت افزایش یافته در هفته نهم بارداری به حداکثر می رسد و سپس رو به کاهش می گذارد. نسبت ITA به کل hCG در هفته های ۴ تا ۶ بارداری حدود ۲۶٪، در هفته ۶ تا ۸ بارداری حدود ۱۱٪، در ماه سوم بارداری حدود ۲/۹٪ در

همان
طور که
گفته شد
در دو
دهه اخیر
همواره
سعی بر

هنگام قضاوت بر سر وجود یا عدم وجود یک اختلال در پروتکل های غربالگری، هر چه مارکرها بیشتر استفاده شود (مشروط بر اینکه شرایط یک مارکر مناسب را داشته باشند) میزان تشخیص تست افزایش می یابد.

آن بوده است تا با افزودن مارکرها کارآمد جدید به پروتکل های غربالگری موجود، میزان تشخیص این پروتکل ها برای سندروم داون افزایش یابد. در این روند میزان تشخیص سندروم داون از سال ۱۹۸۴ تا سال ۲۰۰۰ از ۴٪ (برای تست AFP) به ۸۵٪ (برای غربالگری توام سه ماهه اول) افزایش یافت و پس از آن با ترکیب مارکرها سه ماهه اول سه ماهه دوم، میزان مزبور به ۹۲٪ رسید.

آزمایشگاه پزشکی پارسه

همانگونه که ذکر شد میزان تشخیص تست پنتا اسکرین برای سندروم داون حدود ۸۴٪ است که بیشترین میزان تشخیص در میان تمامی تستهای غربالگری سه ماهه دوم بارداری محسوب میشود تست مزبور از هفته ۱۴ تا ۲۲ بارداری قابل انجام است اگرچه بهترین زمان برای انجام این تست هدفته های ۱۵ تا ۲۰ بارداری است در ایران بهترین زمان برای انجام تستهای غربالگری سه ماهه دوم، هفته ۱۵ بارداری است.

سه ماه سوم بارداری حدود ۲٪ است سطح ITA در بارداریهای متأثر از سندروم داون بیشتر از حد معمول است . این مارکر نیز به تنهایی مارکری مناسب برای غربالگری سندروم داون نیست اما زمانی که با مارکرهای AFP و hCG استریول آزاد و Inhibin A تلفیق شود ریسک به دست آمده برای سندروم داون در ۲ جمعیت باردار نرمال و باردار مبتلا فاصله بسیار زیادی از یکدیگر می یابد و این امر به معنای افزایش هرچه بیشتر میزان تشخیص و کاهش موارد مثبت کاذب است.

باشند. OAPR به صورت 1:n نشان داده می شود. به عنوان مثال اگر OAPR برای یک پروتکل غربالگری سندروم داون ۱:۲۰ باشد بدان معنا است که از هر ۲۰ نفری که نتیجه تست غربالگری آن مثبت است تنها یک نفر دارای جنین مبتلا به سندروم داون است. OAPR شاخصی از ارزش پیشگویی مثبت یک تست غربالگری است. ارزش پیشگویی مثبت به صورت درصد بیان می شود.

احتمال مبتلا بودن جنین در صورت مثبت بودن جواب تست غربالگری (OAPR)

همان گونه که از نام آن بر می آید احتمال مبتلا بودن جنین به یک ناهنجاری خاص (در اینجا سندروم داون) است. در صورتی که نتیجه غربالگری برای آن ناهنجاری مثبت باشد. به هیچ عنوان نباید انتظار داشت تمام و یا درصد زیادی از کسانی که نتیجه تست های غربالگری آنان مثبت است ، دارای جنین های مبتلا

حساسیت و اختصاصیت غربالگری جنین برای سندروم داون:

درصد تشخیص پروتکل های غربالگری سه ماهه دوم	
درصد تشخیص (با فرض ۵٪)	نام پروتکل
42%	سن و AFP
60%	سن و AFP و hCG
67%	سن و AFP و hcG و uE3 (تریپل مارکر)
77%	سن و AFP و hcG و uE3 و Inhibin A (کواد مارکر)
84%	سن و AFP و hcG و uE3 و Inhibin A و ITA (پنتا مارکر)

آزمایشگاه پزشکی پارسه

	تغییرات مارک‌های بیوشیمیایی طی سه ماهه دوم در اختلالات مختلف				
	AFP MoM	hcG MoM	uE3 MoM	Inhibin A MoM	ITA MoM
ONTD	↑	→	→	→	→
Anencephaly	↑	→	↓	→	→
DOWN's Syndrome	↓	↑	↓	↑	↑
Trisomy 18	↓	↓	↓	↓ or →	↓
Turner's Syndrome Without Hydrops Fetalis	↓	↓	↓	↓ or →	?
Turner's Syndrome With Hydrops Fetalis	↓	↑	↓	↑	?
Fetal Demise	↑ or ↓	↑ or ↓	↓	↑ or ↓	?

↑	افزایش
↓	کاهش
→	طبیعی



Ultrasound/Sonogram



آزمایشگاه پزشکی پارسه

خلاصه اطلاعات هر یک از پروتکل‌های غربالگری

Screening Protocol	First Trimester	First and Second Trimester Combined			Second Trimester		
	First Trimester Combined Screen	Serum Integrated Screen	Integrated Screen	Sequential Screen	Triple Screen	Quadruple Screen	Penta Screen
Down's Syndrome Detection Rate	85%	85%	92%	94-97%	67%	77%	84%
False Positive Rate	5%	5%	5%	5%	5%	5%	5%
OAPR	1 in 23	1 in 22	1 in 21	1 in 9-16	1 in 50	1 in 33	1 in 25
Trisomy 18 Detection Rate	80%	90%	90%	90%	70%	80%	90%
ONTD Detection Rate	-	80%	80%	80%	80%	80%	80%
Markers	NT + PAPP-A + fβhCG	PAPP-A	NT + PAPP-A	NT + PAPP-A + fβhCG			
		AFP+hCG + uE3 + Inhibin A	AFP+hCG + uE3 + Inhibin A	AFP+hCG + uE3 + Inhibin A	AFP+hCG + uE3	AFP+hCG + uE3 + Inhibin A	AFP+hCG + uE3 + Inhibin A + ITA
Timing	11w 0 d 13w 6 d	10w 3 d 13w 6 d	11w 0 d 13w 6 d	11w 0 d 13w 6 d			
		15w 0 d 22w 6 d	15w 0 d 22w 6 d	15w 0 d 22w 6 d	15w 0 d 22w 6 d	15w 0 d 22w 6 d	15w 0 d 22w 6 d

OAPR

Odds of being Affected given a Positive Result

احتمال مبتلا بودن جنین در صورت داشتن جواب مثبت در غربالگری

آزمایشگاه پزشکی پارسه



PARSEH MEDICAL LABORATORY
 Jenah Avenue, Sadeghiyeh Sq., Tehran
 www.ParsehLab.com
 +98 21 44287563 - 4

Maternal Serum Screening (Quadruple Marker)

PATIENT INFORMATION

NAME
 PATIENT CODE: 567
 DOB: 22/06/85
 LMP: 18/07/09
 LOCATION:
 PHYSICIAN: Shirin Heshmat

Dr.

CLINICAL INFORMATION

GESTATIONAL AGE: 18 weeks 1 day
 from BPD of 37.4 mm on 09/11/09
 MATERNAL AGE AT TERM: 24.8 years
 MATERNAL WEIGHT: 70.0 kg
 MATERNAL RACE: Caucasian
 MATERNAL HISTORY: RH
 GESTATION: Singleton
 SCREENING STATUS: Initial sample

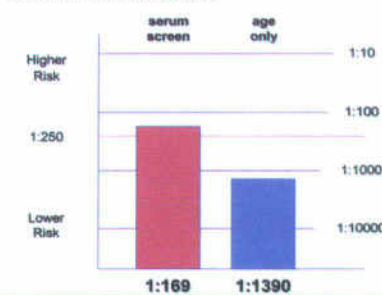
SPECIMEN
 SPECIMEN CODE: a-1088
 COLLECTION DATE: 16/11/09

RECEIVED: 23/11/09
 REPORTED: 24/11/09

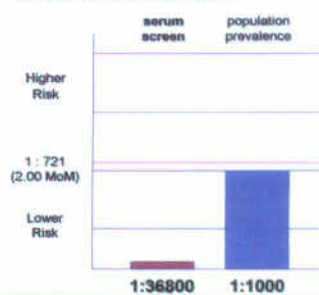
CLINICAL RESULTS

Assay	Results	MoM
AFP	33.6 IU/mL	0.97
uE3	2.80 ng/mL	0.47
hCG	23.3 IU/mL	1.05
Inhibin A	441.0 pg/ml	2.41
Risk Assessment (at term)		
OSB:		1:36800
Down Syndrome		1:169
Age alone		1:1390
Equivalent Age Risk		38.9
Trisomy 18		1:8820

DOWN SYNDROME



OPEN SPINA BIFIDA



Interpretation* (based on partial information supplied)

DOWN SYNDROME

SCREEN POSITIVE

The risk of Down syndrome is GREATER than the screening cut-off. If the gestational age is confirmed, counselling regarding the risks and benefits of amniocentesis is suggested. This is only a screening test
 A negative result does not guarantee a healthy baby
 A positive result does not mean that the baby has a problem, BUT further testing ultrasound & CVS or amniocentesis) would be offered.

OPEN SPINA BIFIDA

Screen Negative

The maternal serum AFP result is NOT elevated for a pregnancy of this gestational age. The risk of an open neural tube defect is less than the screening cut-off.

TRISOMY 18

Screen Negative

These serum marker levels are not consistent with the pattern seen in Trisomy 18 pregnancies. Maternal serum screening will detect approximately 60% of Trisomy 18 pregnancies.

Dr. Ali Fatehi (DCLS)

Dr. Mir Majid Mossalaeie (DCLS)

Please note that Risk Calculations are statistical approaches and do not have any diagnostic value. The calculated risk depends on the accuracy of the information provided by the patient and her physicians or sonographer(s).

Reprinted 25/11/09 14:35:19

آزمایشگاه پزشکی پارسه

تفسیر نتایج غربالگری:

- ۱- بالا بودن ریسک ضایعات کانال عصبی یا NTD در شرایطی که زمان حاملگی درست تعیین شده باشد و سن جنین کمتر از ۱۹ هفته باشد بالا رفتن مقدار AFP MoM $(2.5 < AFP MoM < 3.5)$ در خون مادر قابل توضیح نبوده و آزمایش خون دوباره تکرار می گردد. باید در نظر داشت در شرایط زیر تست خون مجدداً انجام نمی شود:
 - ۱- بالا بودن درصد ریسک سندروم داون
 - ۲- $AFP MoM > 2.5$ و حاملگی بیشتر از ۱۹ هفته باشد.
 - ۳- در صورت $AFP MoM > 3.5$
- برای پیشگیری مقدار غیر طبیعی AFP مشاوره ژنتیکی به مادر توصیه شده و بعد از آن آمینوسنتز برای آزمایشات کروموزومی انجام می گردد. در صورت نرمال بودن جواب آزمایش ژنتیک، غیر طبیعی بودن مقدار AFP را می توان به دلیل سایر مشکلات حاملگی، پارگی و یا رشد رحم توجیه کرد.
- ۲- بالا بودن ریسک سندروم داون: آزمایش خون مجدداً تکرار می شود و در صورت بالا بودن ریسک بعد از سونوگرافی آزمایشات سیتوژنتیک از مایع آمنیوتیک به مادر توصیه می شود.
- ۳- بالا بودن ریسک تریزومی ۱۸: از هر ۹ حاملگی با ریسک بالای تریزومی ۱۸، تنها یک مورد جنین مبتلا وجود دارد. لذا این میزان الزاماً دلیل بر بیمار بودن تمام جنین ها نبوده و مشاور ژنتیکی و آزمایشات سیتوژنتیک از مایع آمنیوتیک به مادر پیشنهاد می شود.
- ۴- ریسک طبیعی: همیشه طبیعی بودن میزان هورمون ها دلیل بر سالم بودن نوزاد نیست در غربالگری AFP درصد خطا برای $Open Spina Bifida$ ۲۱٪ و $Anencephaly$ ۱۲٪ می باشد. بسته بودن NTD در بیشتر موارد مشخص نمی شود، همچنین ممکن است ۲-۳٪ از نوزادان به نوعی مشکل ذهنی و یا فیزیکی داشته باشند که بعضی از آنها با آزمایشات قبل از تولد قابل شناسایی نمی باشد.

و همواره به خاطر داشته باشید:

اکثر نوزادان سالم متولد می شوند!

در خاتمه ذکر این مطلب ضروری است که کالج طب زنان و زایمان آمریکا توصیه می نماید که تمام زنان باردار در هر سنی در فاصله هفته های ۱۵ تا ۱۸ بارداری مورد غربالگری سندروم داون قرار گیرند. به همین دلیل بروز این اختلال در سالهای اخیر در آمریکا بسیار کاهش یافته است.

آزمایشگاه پزشکی پارسه

طرف قرارداد تامین اجتماعی، خدمات درمانی، نیرزه‌های مسلح، منابع هوایی، شهرداری، بانک کشاورزی، بانک مرکزی، بیمه ایران، بانک تجارت، بانک صادرات

بیوشیمی عمومی	بیوشیمی تخصصی	فون شناسی	هورمون شناسی	ایمنی شناسی
FBS	HBA1c	CBC	T4 (ECL)	FANA
2hr.pp	Hb. Electrophoresis	RBC Morphology	T3 (ECL)	ANA
BS(4pm)	Protein Electrophoresis	Hb.	T3up (ECL)	Anti ds DNA
GTT	Blood Amino Acid Analysis	Hct.	TSH (ECL)	c ANCA
BUN, Cre	Urine Amino Acid Analysis	ESR (1st)	FT3 (ECL)	p ANCA
Cho., Tg.	Apo A1	ESR (2nd)	FT4 (ECL)	AMA
HDL-C	Apo B	Plateletes	Thyroglobulin (ECL)	ASMA
LDL-C	LP (a)	Retc Count	Anti T.G (ECL)	Anti Cardiolipin (G,A,M)
VLDL-C	Lipase	E.T.	Anti TPO (ECL)	Anti Phospholipid (G,A,M)
Uric Acid	CK-MB	C.T.	FSH (ECL)	IgG, IgA, IgM
Ca. & P	Troponin T	PT with INR	LH (ECL)	C3, C4, CH50
Na, K	Troponin I	PTT	Prolactin (ECL)	IgG1
Cl	Alpha HBDH	Fibrinogen	Estradiol (ECL)	IgG2
Mg	Gamma GT	Direct Coombs	17-OH Progesterone	IgG3
Cu	Alk.Phos Isoenzymes	Indirect Coombs	Progesterone (ECL)	IgG4
Zn	Urine Sugar Chromatography	Blood Group & Rh.	Cortisol (ECL)	IgE
LI	UBT	LE cell	GH 8 am or 4pm	HBs Ag, HBs Ab
Alk.Ph.	ADA	Mallarda	GH-GTT	HBs Ag, HBs Ab
Acid Ph. (Total)	Aldolase	Borella	GH-LDOPA	HBc Ab (Total) (IgM)
Acid Ph.(Prostatic)	VMA	G6PD	GH-clonidin	HCV Ab
Bili (T&D)	Metanephrine	Hamm's Test	PTH (ECL)	HAV Ab (IgG,IgM)
AST (SGOT)	Normetanephrine	Water Sugar Lysis Test	DHEA-SO4 (ECL)	HIV 1,2 p24 Ag, Ab
ALT (SGPT)	Epinephrine	Sickelling Test	Testosterone (ECL)	H. pylori (G,A,M)
CK	Sodium Valparate	نابآوری	free Testosterone	Toxo (IgG, IgM)
LDH	Phenobarbital	Spermogram	B h cG	Rubella (IgG, IgM)
Amylase	Carbamazepine	Ant Sperm Ab.	B h cG 6ter (ECL)	CMV (IgG, IgM)
Total Protein	Cyclosporin level	Ant Sperm Auto Ab.	ACTH	HSV-1(G,M)
Serum Albumin	Dig. Level (ECL)	Seminal Fructose	Ferritin (ECL)	HSV-2 (G,M)
Iron, TIBC	ACE	Post Coital Test (PCT)	Folic Acid (ECL)	Listeria Ab
Cre. Clearance	Beta 2 Microglobulin	Sperm Capacitation for IUI	VR. B12 (ECL)	Anti Chlamidia(G,M)
Urine 24 (Pro.)	Ceruloplasmin	نساز شناسی	Insulin (ECL)	Anti Mycoplasma(G,M)
Urine 24 (Ca)	Haptoglobin	VDRL (RPR)	C peptide (ECL)	Anti VZV (G,M)
Urine 24 (P)	Pre Albumin	ASOT	Triple Marker Test	Anti Mumps (G,M)
Urine 24 (Na)	Transferrin	CRP (Qualitative)	Quadruple Marker	Anti Measels (G,M)
Urine 24 (K)	Alpha-1 AT	CRP (Quantitative)	تومور مارکرها	Anti EBV (G,M)
Urine 24 (Cl)	PAPPA	RF	CEA (ECL)	Anti Hydatid Ab.
Urine 24 (Mg)	Inhibin A	Wright	Alpha FP (ECL)	Brucella Ab (G,M)
Urine 24 (Amyl)		Widal	PSA (ECL)	Anti SSA & SSB & JO1
Urine 24 (Urea)		Widal Coombs Wright	free PSA (ECL)	Anti Endomefal Ab.
Urine 24 (Grea.)		2ME	CA 125 (ECL)	Anti Gliadin (G,A,M)
Urine 24 (U.A)	میکروب شناسی	Mono Test	CA 15-3 (ECL)	Anti CCP
Urine 24(VMA)	Direct Smear	PPD	CA 19-9 (ECL)	TTG (IgA)
Urine 24(Citrate)	Culture	Xylocain Test	CA 72-4 (ECL)	C1 Inactivator
Urine 24(Oxalate)	Antiblogram	Cryoglobulin	Cyfra 21-1 (ECL)	HLA B5, B27, ...
تشخیص مولکولی	B.K direct smear	Cold Agglutinin	NSE (ECL)	آدرار
HBV DNA PCR	Fungi direct	Cold Agglutinin	S-100	Urinalysis
HBV DNA viral load	Leishman Body	تست های بیماری های متابولیک اثری		Urine Culture
HCV RNA RT-PCR	Urease Rapid Test	Galactose (GALT)	MMA	Grawindex
HCV RNA viral load	مدفوع	MSUD	Plasma Pyro vate	Urine Glucose
HPV Genotyping	Ova & Parasite	MPS	Porphirinuria	Urine Ketone Bodies
MTS DNA PCR	Occult Blood	Urine Cystein	PKU	Urinary Calculi
BGR-abl	Stool Culture	Urine Homocystein	MPS	Urine Hemosiderine
Jac 2	Scotch Tape Test	Plasma Ammonia	Electrophoresis	Urine Microalbumin
Fac II, Fac V, MTHFR		Urine Reducing Substances	Plasma Lactate	Urinary Opiates

آزمایشگاه پزشکی پارسه

مجهز به دستگاههای اتوماتیک - تحت نظارت برنامه های کنترل کیفی
خارجی Labquality فنلاند و EQAP ایران

طرف قرارداد با سازمانهای تامین اجتماعی، خدمات درمانی،
نیروهای مسلح، صنایع هواپیمایی، شهرداری، بانک مرکزی، بانک
کشاورزی، بانک تجارت، بانک صادرات، بیمه ایران

۷ صبح تا ۸ شب یکسره

بیوشیمی - هورمون شناسی - خون شناسی - سرم شناسی
ایمنی شناسی - میکروب شناسی - انگل شناسی - قارچ شناسی
آلرژی شناسی - الکتروفورز
تست سلامت جنین (تریپل مارکر تست، کوادمارکر، اینتگریتد)
- UBT - آماده سازی اسپرم جهت IUI - تستهای بیماریهای
متابولیک نوزادان - آزمایشات تشخیص مولکولی کیفی و کمی
به روش Real Time PCR

۴۴۲۸۷۵۶۳ - ۴۴۲۸۷۵۶۴