دانشکده پردیس بین الملل

پایان نامه کارشناسی ارشد زیست شناسی ژنتیک

عنوان:

تشخیص پیش از تولد آنیوپلوئیدی از طریق DNA آزاد جنینی در پلاسمای مادر

از:

محمد صابری

استاد راهنما:

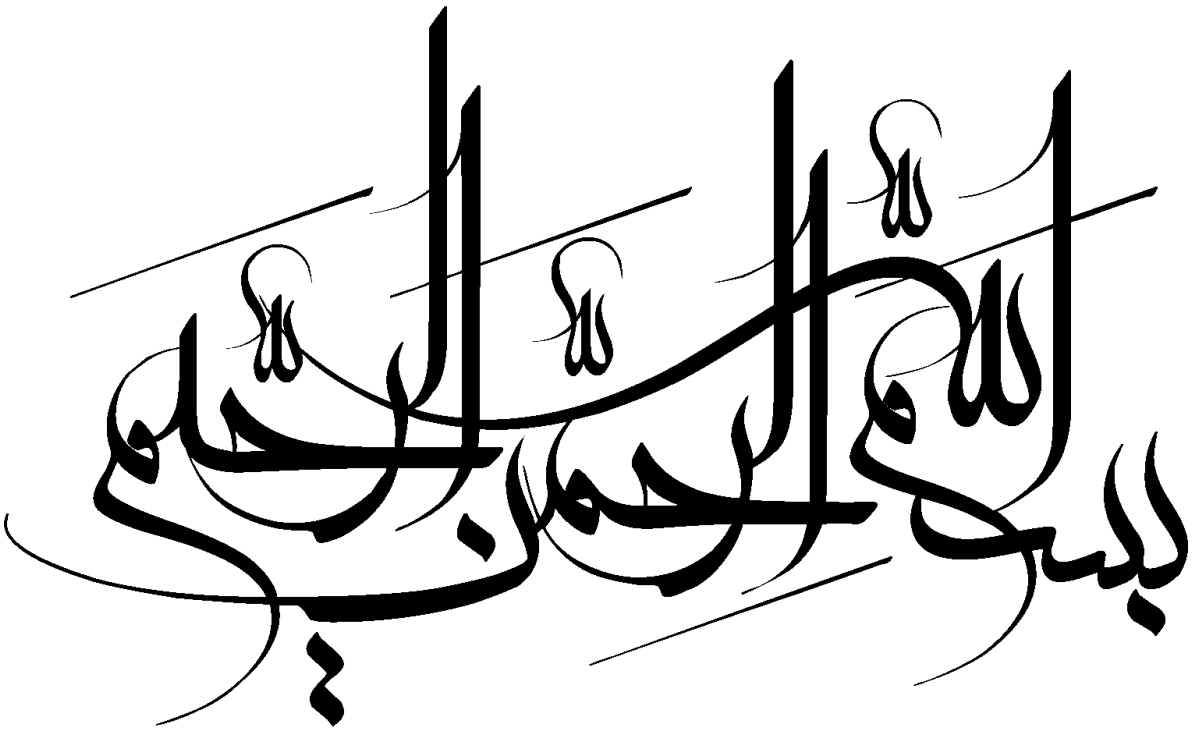
دکتر محمد تقی اکبری

اساتید مشاور :

دکتر زیور صالحی

دکتر آرزو صیاد

بهمن ۹۲


بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده پردیس بین الملل

گروه زیست شناسی

گرایش ژنتیک

پایان نامه کارشناسی ارشد

عنوان:

تشخیص پیش از تولد آنیوپلوئیدی از طریق DNA آزاد جنینی در پلاسمای مادر

از:

محمد صابری

استاد راهنما:

دکتر محمد تقی اکبری

اساتید مشاور :

دکتر زیور صالحی

دکتر آرزو صیاد

بهمن ۹۲

تقدیم به روح پاک پدرم

که از نگاهش صلابت، از رفتارش، محبت و از صبرش، ایستادگی را آموختم

تقدیم به مادرم

دریای بی کران فداکاری و عشق، که وجودم برایش همه رنج بود و وجودش برایم همه مهر

تقدیم به برادرم

که همواره متحمل زحماتم بود و تکیه گاه من در مواجهه با مشکلات، و وجودش مایه دلگرمی من

سپاس خدای را که هر چه دارم از اوست

با تشکر فراوان از:

استاد راهنمای گرانقدرم، جناب **آقای دکتر اکبری** که شرایط لازم برای انجام این مطالعه را فراهم نمودند و صمیمانه مرا در انجام این طرح یاری نمودند.

اساتید مشاور بزرگوار، **سرکار خانم دکتر صالحی و سرکار خانم دکتر صیاد** که با مشاوره های ارزنده شان مرا در هر چه بهتر شدن این پایان نامه یاری نمودند.

اساتید محترم، جناب **آقای دکتر مشایخی و خانم دکتر سریری** که زحمت داوری پایان نامه ام را پذیرفتند.

پرسنل محترم آزمایشگاه ژنتیک پزشکی تهران خصوصاً **سرکار خانم دکتر زارع**، **سرکار خانم دکتر فرخزادی**، **سرکار خانم صراحی** و **سرکار خانم بهمنی** که در طی مراحل مختلف اجرا و نگارش این پایان نامه همراه من بودند.

خانواده عزیزم که بخاطر من سختی های بسیاری را متحمل شدند و حضورشان باعث دلگرمی من بوده است.

سرکار خانم دکتر بیات که همواره مرا صمیمانه و مشفقانه یاری دادند و تمامی عزیزانی که در طی این تحقیق به اینجانب یاری رساندند.

محمد صابری

زمستان ۹۲

چکیده

تشخیص پیش از تولد آنیوپلوئیدی از طریق ارزیابی DNA آزاد جنینی در پلاسمای مادر

محمد صابری

این مطالعه به بررسی تفاوت در متیلاسیون دو ژن AIRE و RASSF1A بین مادر و جنین و استفاده از این تفاوت در شناسایی DNA آزاد جنینی در پلاسمای مادر در تشخیص پیش از تولد تریزومی 21 می پردازد. از 30 خانم باردار که دارای جنین تک قلو بودند، نمونه خون گرفته شد. همچنین از آن ها نمونه مایع آمنیوتیک برای بررسی کاریوتایپ، تهیه گردید. جهت تشخیص تریزومی 21 از تفاوت در متیلاسیون دو ژن RASSF1A و AIRE از آنزیم های حساس به متیلاسیون و سپس PCR فلورسنت کمّی استفاده گردید. این متد موید این نکته می باشد که دو ژن RASSF1A و AIRE در DNA سلول های خونی مادر هایپومتیله اما در DNA آزاد جنینی استخراج شده از پلاسما، هایپرمتیله می باشد. تشخیص تریزومی 21 براساس محاسبه نسبت آللی دو ژن RASSF1A و AIRE که در جنین هایپرمتیله هستند و با آنزیم های حساس به متیلاسیون برش نمی خورند، صورت می گیرد. صحت این نتایج با نتایج حاصل از کاریوتایپ نمونه های آمنیوسنتز آزموده شد. از بین 30 نمونه بررسی شده، 8 نمونه به طور قطعی تریزومی 21 و 18 نمونه به درستی سالم تشخیص داده شدند. 4 نمونه در ابتدا به اشتباه تریزومی 21 تشخیص داده شدند که با بررسی بیشتر و تکرار تست سالم بودن آن ها به اثبات رسید. نسبت آللی AIRE/RASSF1A در DNA استخراج یافته از پلاسمای مادر دارای جنین مبتلا به تریزومی 21 بین 0.33 تا 1.77 می باشد. از آن جایی که از بین 22 نمونه سالم تنها 18 مورد به درستی سالم تشخیص داده شد، حساسیت این تست 81.81٪ می باشد. همچنین همه 8 نمونه ای که با تست کاریوتایپ تریزومی 21 بودند، توسط این تست نیز تریزومی 21 تشخیص داده شدند، بنابراین اختصاصیت این تست 100 درصد می باشد. در نهایت نتیجه گیری شد که نواحی همچون RASSF1A و AIRE که از نظر متیلاسیون بین مادر و جنین متفاوت می باشند، به عنوان مارکرهای اختصاصی جنین در تشخیص های پیش از تولد همانند تریزومی 21، قابل کاربرد هستند.

همچنین با انجام STR-Typing و مشاهده آلل های ویژه پدری در DNA استخراج یافته از پلاسمای مادر، صحت پروتوکل استخراج در 5 گروه نمونه که هرکدام شامل DNA های استخراج یافته از پلاسمای مادر و DNAهای استخراج یافته از خون محیطی بودند، به اثبات رسید

کلید واژه: تشخیص پیش از تولد غیر تهاجمی، DNA آزاد جنینی، ناهنجاری کروموزومی، متیلاسیون تمایزی

Abstract

Prenatal Diagnosis of Aneuploidy by Cell Free Fetal DNA in Maternal Plasma
Mohammad Saberi

This study examined the methylation difference in AIRE and RASSF1A between maternal and fetal DNA, and the implication of this difference in the identification of free fetal DNA in maternal plasma and in prenatal diagnosis of trisomy 21. Maternal plasma and amniotic fluid samples were collected from 30 singleton pregnancies from all of them. Methylation-sensitive restriction enzymes in digestion of differential maternal-fetal methylation followed by fluorescent quantitative PCR (MSRE + PCR) were employed to detect trisomy 21.. This method confirmed that AIRE and RASSF1A were hypomethylated in maternal blood cells but hypermethylated in cell free fetal DNA that extracted from plasma. Diagnosis of trisomy 21 was established according to the ratio of fetal-specific AIRE to RASSF1A that are hypermethylated in maternal plasma and are not digested with methylation sensitive restriction enzymes. All of the results were approved with karyotype results. Moreover, the differential methylation for each locus could be seen during the whole pregnant period. Based on the data from 22 euploidy pregnancies, the 95% reference interval of the fetal AIRE/RASSF1A ratio in maternal plasma was 0.33–1.77, which was taken as the reference value for determining the numbers of fetal chromosome 21 in 30 pregnancies. Because 18 from 22 euploidy pregnancies were detected euploid correctly the sensitivity rate in was 81.81% (18/22). All of the eight trisomy 21 pregnancies were diagnosed with this method correctly so the specificity of this method was 100%. It was concluded that hypermethylated AIRE and RASSF1A may serve as fetal-specific markers for the identification of fetal DNA in maternal plasma and may be used for noninvasive prenatal diagnosis of trisomy 21.

Also with performing STR-Typing and checking paternal alleles in maternal plasma and comparison with maternal alleles in 16 loci, the protocol of cell free fetal DNA extraction from plasma were confirmed.

Key words: Cell Free Fetal DNA; Aneuploidy; Differential Methylation, Noninvasive prenatal diagnosis

فهرست مطالب

1 فصل اول مقدمه.....1

1-1 ناهنجاری های مادرزادی.....2

1-1-2 انواع ناهنجاری های مادرزادی.....2

1-2 ناهنجاری های کروموزومی.....3

1-2-1 سندرم داون.....5

1-2-2 سندرم ادوارد.....9

1-2-3 سندرم پاتو.....10

1-3 تشخیص پیش از تولد.....11

1-3-1 تعریف و تاریخچه.....11

1-3-2 اهداف و مزایای تشخیص پیش از تولد.....12

1-3-3 موارد لزوم تشخیص پیش از تولد.....12

1-3-4 روش های تشخیص پیش از تولد.....13

1-3-5 زمان مراجعه جهت انجام آزمایش های پیش از تولد.....20

1-3-6 لزوم استفاده از روش های غیرتهاجمی تشخیص پیش از تولد.....21

1-4 نوکلوئیک اسیدهای خارج سلولی.....22

1-4-1تاریخچه.....22

1-4-2 ویژگی های DNA خارج سلولی.....23

1-4-3 اندازه و طول DNA آزاد جنینی.....24

1-4-4 منشا DNA آزاد جنینی.....25

1-4-5 پایداری و بقایDNA آزاد جنینی در پلاسمای مادر.....26

1-4-6 کاربرد DNA آزاد جنینی در تشخیص های پیش از تولد 27
1-4-6-1 کاربرد DNA آزاد جنینی در تعیین جنسیت جنین.....27
1-4-6-2 کاربرد DNA آزاد جنینی در ناهنجاری های تک ژنی.....28
1-4-6-3 تشخیص پیش از تولد غیرتهاجمی بیماری های مرتبط با بارداری.....29
1-4-6-4 تشخیص پیش از تولد غیر تهاجمی ناهنجاری های کروموزومی جنین.....29
1-5 نگرش تکنیکی.....32
1-6 مارکرهای اختصاصی جنینی.....34
1-6-1 تمایز اپی ژنتیکی بین مادر و جنین.....35
1-6-2 تشخیص مارکرهای اپی ژنتیکی جنین در پلاسمای مادری.....37
1-6-3 فاکتورهای تاثیرگذار بر قدرت تشخیص.....38
1-7 اهداف و فرضیات.....39
2 فصل مواد و روش ها.....40
2-1 جمعیت مورد مطالعه، نمونه گیری و روش کلی.....41
2-2 استخراج DNA آزاد جنینی از پلاسمای خون مادر.....41
2-3 تهیه کاریوتایپ.....47
2-4 DNA-Typing (STR-Typing) 48
2-5 هضم آنزیمی DNA آزاد مادری.....53
2-6 Real Time PCR.....55
2-6-1 پارامتر های مورد استفاده در Real Time PCR.....58
2-6-2 انواع روش های کمیت سنجی در تکنیک Real time PCR.....59

3-6-2 پرایمر های مورد استفاده در Real-Time PCR……..……60
4-6-2 مواد و وسایل مورد نیاز برای انجام Real Time PCR……..……61
7-2 آنالیز آماری داده ها……65
3 فصل نتایج……73
1-3 بررسی آماری جمعیت مورد مطالعه.....74
2-3 بررسی صحت استخراج DNA با روش DNA Typing (STR Typing).....74
1-2-3 نتایج تست STR-Typing……79
2-2-3 بررسی آماری نتایج حاصل از STR-Typing جهت تائید پروتوکل استخراج DNA……79
3-3 تشخیص پیش از تولد سندروم داون……81
1-3-3 نتایج Real-time PCR……81
2-3-3 نتایج Real time PCR مربوط به جنین سالم……82
3-3-3 نتایج Real time PCR مربوط به جنین تریزومی21……85
4-3-3 نتایج مثبت کاذب در Real time PCR……87
5-5-3 بررسی آماری نتایج Real-time PCR در تشخیص تریزومی 21 جنین……89
4 فصل بحث……90
1-4بحث و تفسیر……91
2-4 نتیجه گیری……95
3-4 پیشنهادات……95
5 فصل منابع……96

فهرست جداول

جدول 1-1. غربالگری سندرم داون……8
جدول1- 2 سطح فاکتورهای بیوشیمیایی خون مادر با اختلالات جنینی……15

جدول 1-3. ویژگی های کلیدی DNA خارج سلولی جنینی و سلول های جنینی 16

جدول 2-1 لوکوس های تکثیر شده در کیت **AmpFlSTR Identifiler kit**.....49

جدول 2-2 مواد و مقادیر مورد نیاز برای آنجام واکنش STR-Typing PCR.....51

جدول 2-3 برنامه زمانی-دمایی برای انجام STR-Typing PCR.....52

جدول 2-4 پرایمرهای مورد استفاده در Real-Time PCR.....61

جدول 2-5 غلظت و مقدار مواد مورد نیاز برای Real Time PCR Master Mix.....63

جدول 2-6 برنامه زمانی - دمایی برای انجام Real Time PCR.....65

جدول 3-1 بررسی آماری متغیر مستقل سن زنان باردار در تعیین جنسیت جنین.....74

جدول 3-2 جایگاه های تکثیر یافته در STR-Typing و حساسیت و اختصاصیت هرکدام.....80

جدول 3-3 واکنش های real-time PCR برای هر نمونه.....82

جدول 3-4 مقایسه آماری Real-Time PCR و کاریوتایپ.....89

فهرست نمودارها

نمودار 1- 1: ارتباط سن مادر و شانس تولد کودک مبتلا به سندرم داون.....6

فهرست تصاویر

شکل1-1: کاریوتایپ فرد مبتلا به تریزومی21.....5

شکل1-2: علائم مربوط به فرد مبتلا به تریزومی 21.....7

شکل1-3: کاریوتایپ فرد مبتلا به تریزومی13.....10

شکل1-4: نمونه ای از غربالگری با اسکن اولتراسوند.....14

شکل 1-5: آمنیوسنتز و مراحل انجام آزمایش.....17

شکل 1-6: نمونه برداری از پرزهای جفتی و مراحل انجام آزمایش.....18

شکل 1-7: کوردوسنتز.....19

شکل1-8: نحوه تشخیص تریزومی 21 با استفاده از نسبت آللی SNP در mRNA آزاد جنینی.....31

شکل1-2: مراحل استخراج DNA از طریق کیت QIamp DNA Blood Maxi Kit (QIAGEN)....45

شکل 2-2: مراحل تهیه کاریوتایپ از نمونه های جنینی و خون.....46

شکل 2-3: محل های برش آنزیم های محدود کننده روی جایگاه RASSF1A.....52

شکل 2-4: محل های برش آنزیم های محدود کننده روی جایگاه AIRE.....52

شکل 2-5: محل های برش آنزیم های محدود کننده روی جایگاه ACTB (بتا اکتین).....52

شکل 2-6: نحوه عملکرد SYBR Green I در واکنش Real Time PCR.....54

شکل 2-7: منحنی تکثیر واکنش Real Time PCR شامل فاز های مختلف و پارامتر های مربوط.....55

شکل 2-8: دستگاه Real Time PCR (Corbett RG6000).....61

شکل 2-9: برنامه زمانی – دمایی واکنش Real-Time PCR.....62

شکل 3-1: STR-Typing برای مادر، پدر و جنین در لوکوس D5.....67

شکل3-2: تعیین جنسیت جنین از طریق STR-Typing.....68

شکل 3-3: جایگاه های غیرگویا در اثبات وجود DNA جنینی.....69

شکل 3-4: تست Real-Time PCR برای جنین دیزومی 21.....74

شکل 3-5: تست Real-Time PCR برای جنین تریزومی 21.....75

شکل 3-6: نتیجه مثبت کاذب در تست Real time PCR.....78

فصل اول

مقدمه

۱-۱ ناهنجاری های مادرزادی:

نواقص زمان تولد[1]، بد شکلی های مادرزادی[2] و ناهنجاری های مادرزادی[3] اصطلاحات مشابهی هستند که برای توصیف اختلالات ساختاری ، رفتاری ، عملکردی و متابولیک در زمان تولد استفاده می شوند. دانشی که این اختلالات را بررسی می کند، دیسمورفولوژی نامیده می شود(۱).

ناهنجاری های ساختاری اصلی در تقریبا ۳ درصد نوزادان زنده به دنیا آمده و نقایص زمان تولد از علل اصلی مرگ ومیر شیرخواران و مسئول مرگ حدود ۲۵ درصد آن هاست. این نقایص به نژاد یا گروه خاصی وابستگی ندارند و میزان مرگ ومیر ناشی از این نقایص برای آسیایی ها ، سیاه پوستان آمریکایی ،آمریکای لاتین ، سفید پوستان و بومیان آمریکا یکسان می باشد. علت ٤٠-٤٥ درصد نقایص زمان تولد نامشخص است. عوامل ژنتیکی مانند ناهنجاری های کروموزومی و ژن های جهش یافته حدود ۲۸ درصد، عوامل محیطی حدود ٤-۳ درصد، ترکیب عوامل ژنتیکی و محیطی(چند عاملی)، ۲۵-۲۰ درصد و دوقلو بودن ۱-۰/۵ درصد در بروز این نقایص دخیل می باشند(۲).

۱-۱-۱ انواع ناهنجاری های مادرزادی:

ناهنجاری های جزیی[4] در حدود ۱۵ درصد نوزادان رخ می دهند. این ناهنجاری های ساختاری مانند میکروشیا (گوش های کوچک)، لکه های رنگی و شکاف های پلکی کوچک به خودی خود برای سلامتی فرد مضر نیستند ولی گاهی با نقایص عمده همراه می باشند. برای مثال، نوزادان مبتلا به یک ناهنجاری جزیی، به احتمال ۳ درصد یک ناهنجاری عمده هم دارند و در آنهایی که دارای دو ناهنجاری عمده هستند این احتمال به ۱۰ درصد می رسد. و آنهایی که سه یا چندین ناهنجاری جزیی دارند، به احتمال ۲۰ درصد دچار ناهنجاری های عمده هم می باشند.بنابراین ناهنجاری های جزیی سرنخ نقایص زمینه ای شدیدتر می باشند(۳).

---

[1] Birth defects
[2] Congenital malformation
[3] congenital anomaly
[4] Minor Anomalies

دوره رویانی حساس ترین مرحله است و مابین هفته های سوم تا هشتم می باشد. دوره جنینی از انتهای هفته هشتم آغاز می شود و تا زمان زایمان طول می کشد. طی این مدت خطر نقایص ساختاری اصلی کاهش می یابد ولی ممکن است سیستم ها هنوز تحت تاثیر قرار گیرند. با توجه به این که اکثر نقایص هنگام تولد قبل از هفته هشتم رخ می دهند، شروع روش های پیشگیری از نقایص هنگام تولد قبل از حاملگی ضروری می باشند. متاسفانه اکثر خانم ها برای اولین معاینه پیش از تولد فرزند خود تا هفته هشتم به پزشک مراجعه نمی نمایند. از لحاظ زمانی، این هفته بعد از فاصله زمانی حیاتی برای پیشگیری از اکثر نقایص هنگام تولد است(۳).

۱-۲ ناهنجاری های کروموزومی[5]:

ناهنجاری های کروموزومی معمولا به ناهنجاری هایی اطلاق می شوند که اثراتشان از اولین مراحل حیات تا بلوغ و حتی پس از آن نیز بخوبی آشکار است. عدم تعادل کروموزومی هم می تواند ناشی از ناهنجاری تعدادی باشد و هم ساختاری. که معمولا به شرایط ناهنجاری های تعدادی کروموزوم ها، آنیوپلوئیدی[6] کروموزومی گفته می شود. که معنی لغوی آنیوپلوئیدی در زبان یونانی ، مجموعه یا دسته غیرصحیح[7] می باشد. بنابراین آنیوپلویدی به حالتی گفته می شود که تعداد کروموزوم ها مضرب صحیحی از مجموعه هاپلوئید ها نباشد. آنیوپلوئیدی هم می تواند در گامت ها و سلول های اولیه رویانی (انیوپلوئیدی ساختاری) و هم می تواند در سلول های تمایز یافته سوماتیکی (آنیوپلوئیدی اکتسابی) اتفاق بیافتد. همچنین انیوپلوئیدی هم در کروموزوم های اتوزومی (۲۲-۱) و هم در کروموزوم های جنسی (X-Y) قابل رخ دادن می باشد(۳).

با پیدایش تکنیک های آنالیز کروموزومی ناهنجاری های کروموزومی مثل سندرم های داون، کلاین فلتر، ترنر و غیره شناخته شدند. حداقل ۲۰،۰۰۰ ناهنجاری کروموزومی در بانکهای اطلاعاتی وجود دارد که اکثرا نادرند اما روی هم رفته سهم بزرگی در مرگ و میر دارند. ناهنجاری های کروموزومی سهم بزرگی از سقط های خودبخودی و بدخیمی دوران کودکی و بزرگسالی را در بر دارد.

عوامل ایجاد کننده ناهنجاری های کروموزومی ، با ایجاد ناهنجاری در تعداد یا ساختار کروموزوم ها ، از علل مهم ایجاد نقایص مادرزادی و سقط های خودبخودی به شمار می‌روند. تخمین زده می‌شود که ۵۰ درصد از حاملگی‌ها به سقط خودبخودی منجر می‌شوند که ۵۰ درصد از این جنین های سقط شده، ناهنجاری های کروموزومی شدید دارند.

---

[5] Chromosome Abnormalities
[6] Aneuoploidy
[7] Not a good set

بنابراین ، حدود ۲۵ درصد از کل حاملگی‌ها ، با نقایص کروموزومی شدید همراه هستند. شایع‌ترین این ناهنجاریهای کروموزومی سندرم ترنر ، تری‌پلوئیدی و تریوزومی ۱٦ هستند. در مورد نقایص مادرزادی نقایص هنگام تولد ، ناهنجاری های کروموزومی در ایجاد ۷ درصد و جهشهای ژنی در ایجاد ۸ درصد آنها ، دخالت دارند(۲).

ناهنجاری های عددی کروموزوم ها در اکثر موارد طی تقسیمات میوز[۸] و به میزان بسیار کمتری، طی تقسیمات میتوز[۹] اتفاق می‌افتند. در میوز طبیعی ، کروموزوم های یک جفت کروموزوم مشابه[۱۰] معمولا در میوز اول از هم جدا می‌شوند و در نتیجه هر سلول دختری یکی از کروموزوم های هر جفت را دریافت می‌کند. اما گاهی این اتفاق نمی‌افتد و هر دو کروموزوم متعلق به یک جفت کروموزوم، وارد یک سلول واحد می‌شوند به این اتفاق، عدم تفکیک[۱۱] میوزی می گویند. در نتیجه عدم تفکیک کروموزومی ، به جای ۲۳ کروموزوم، یک سلول ۲٤ کروموزوم و سلول دیگر تنها ۲۲ کروموزوم دریافت می‌کند.

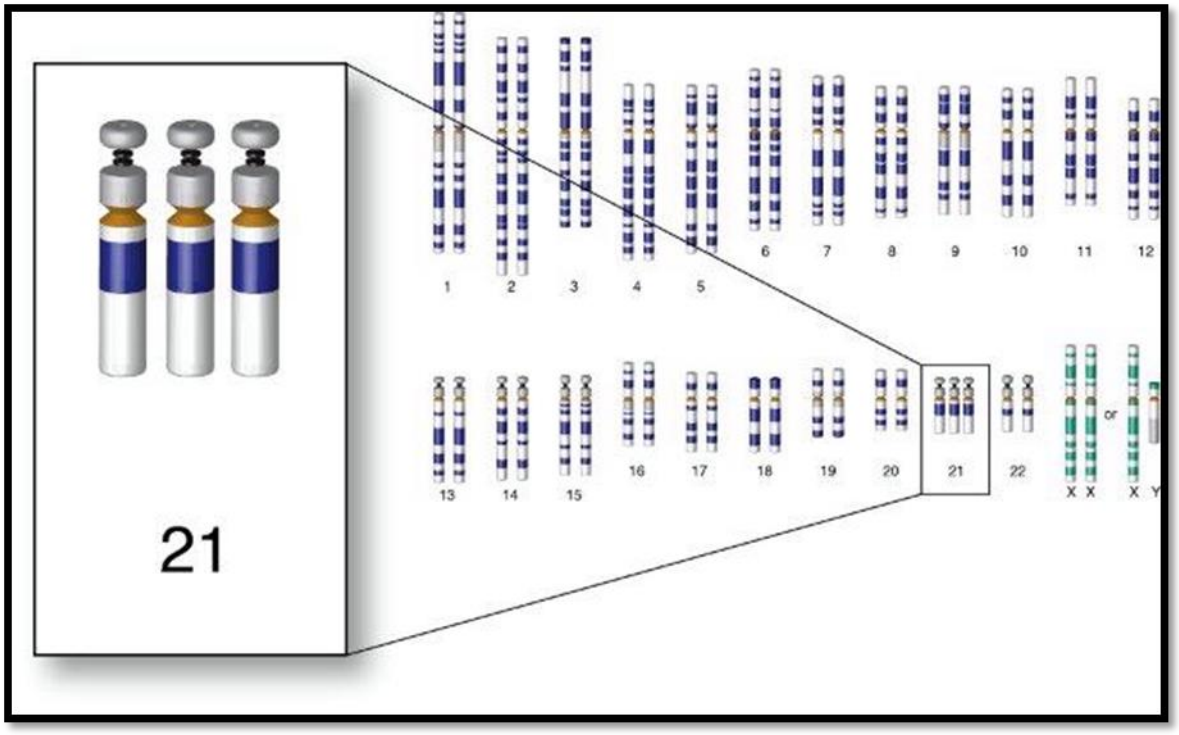
سپس اگر هنگام لقاح ، گامتی با ۲۳ کروموزوم با گامت دیگری حاوی ۲٤ کروموزوم یا ۲۲ کروموزوم ترکیب شود، سلولی با ٤۷ کروموزوم (تریوزومی) یا ٤۵ کروموزوم (مونوزومی) ایجاد خواهد گردید. عدم تفکیک کروموزوم ها ، می‌تواند در طی میوز اول یا دوم سلول های زایشی اتفاق بیفتد و همچنین هم در کروموزوم های اتوزوم و هم در کروموزوم های جنسی دیده می‌شود. در خانم ها ، میزان بروز ناهنجاری های کروموزومی از جمله جدا نشدن کروموزوم ها در گامت ها ، با افزایش سن بویژه در بالاتر از ۳۵ سال ، افزایش می‌یابد(۱).

[8] Meiosis
[9] Mitosis
[10] Homologous Chromosomes
[11] Non disjunction

۱-۲-۱ سندرم داون[۱۲]

تعریف و شرح اصول اولیه سندرم داون:

سندرم داون یا تریزومی ۲۱ که در گذشته مونگولیسم نیز نامیده می‌شد، یک بیماری ژنتیکی است که به دلیل حضور تمام یا بخش از یک کروموزم اضافی در جفت کروموزم ۲۱ به وجود می‌آید(۱). سندروم داون شایع ترین ناهنجاری کرومورزومی در انسان ها می باشد. مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری ها[۱۳] (CDCP) تخمین می زند که سالانه تقریبا یک کودک مبتلا به این سندرم به ازای ۶۹۱ کودک سالم، متولد می شود(۳).



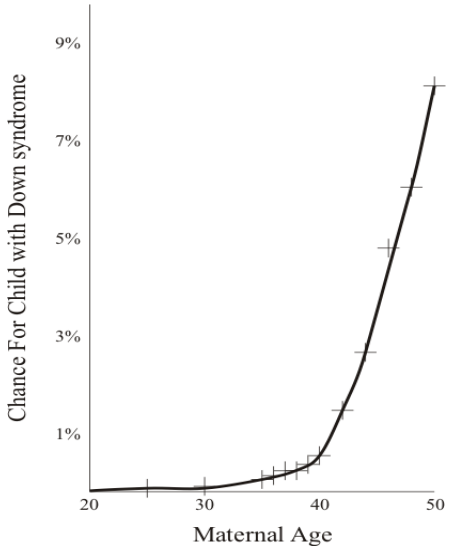
شکل۱-۱: کاریوتایپ فرد مبتلا به تریزومی ۲۱. تمامی کروموزوم های دیگر دیزومی هستند، درحالیکه تنها کروموزوم ۲۱ سه تایی است(۱).

[12] Down Syndrome
[13] Centers for Disease Control and Prevention

تاریخچه:

نام این سندرم از نام یک پزشک انگلیسی به نام جان لانگدون داون[14] گرفته شده‌است(٤) که برای اولین بار این سندرم را در سال ۱۸۶۶ توصیف نمود. وی از آن جایی که کودکان مبتلا حالات چهره ای شبیه به نژاد مغولی[15] داشتند، این بیماری را مونگولیسم[16] نامید. استفاده از این نام تا اوایل دهه هفتاد ادامه پیدا کرد ولی به علت احترام به حقوق این نژاد، بصورت قراردادی دیگر از این نام در کتب و مراجع علمی استفاده نمی گردد. حالات بالینی این بیماری پیش تر توسط Jean-Étienne Dominique Esquirol در سال ۱۸۳۸ و همچنین توسط Édouard Séguin در سال ۱۸٤٤ توصیف شده بود(4).

متوسط میزان بروز این سندرم ما بین ۱ در ۶۰۰ تا یک در ۱۰۰۰ مورد از تولد نوزادان زنده گزارش شده‌است که این میزان در مادران جوان کم تر و با افزایش سن مادر افزایش می‌یابد. با این وجود در حدود دو سوم مبتلایان به سندرم داون از مادران زیر ۳۵ سال متولد می‌شوند(9).

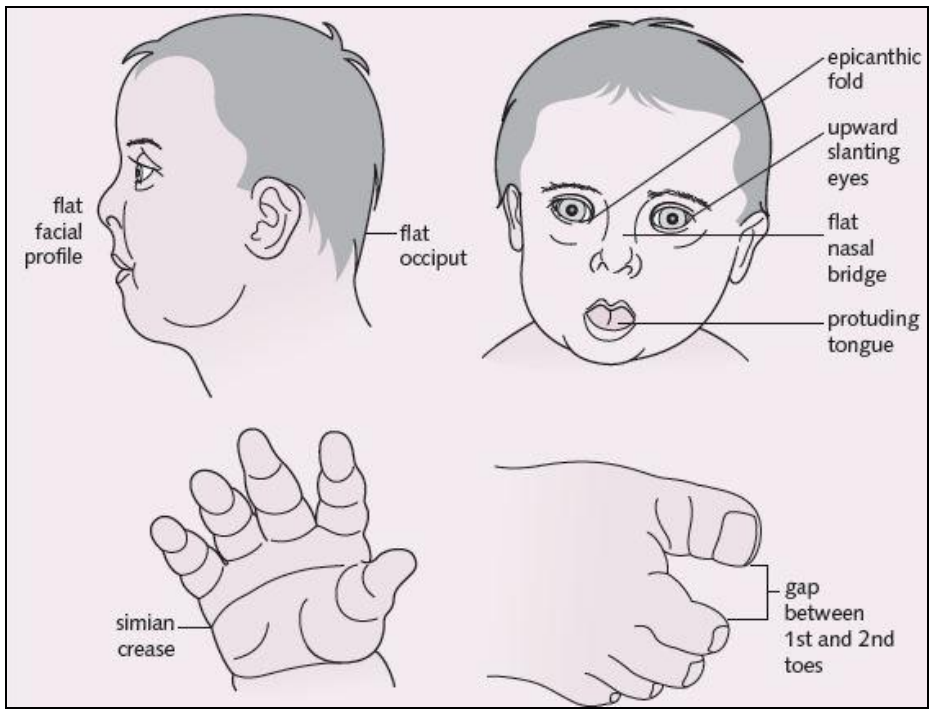


نمودار ۱- ۱: ارتباط سن مادر و شانس تولد کودک مبتلا به سندرم داون. با افزایش سن مادر احتمال تولد کودک مبتلا به سندرم داون افزایش می یابد(۳).

[14] John Langsdon Down
[15] Mongolian race
[16] Mongoloid

علایم:

این بیماری دارای علایم مختلف از جمله ناهنجاری‌های عمده و یا خفیف در ساختار یا عملکرد ارگان‌ها می‌باشد. از جمله علایم عمده و زودرس که تقریباً در همه بیماران مشاهده می‌شود وجود مشکلات شدید هوش و یادگیری و نیز محدودیت و تاخیر در رشد و نمو می‌باشد(۳). میانگین ضریب هوش یا IQ این افراد حدود ۵۰ می باشد. لازم به ذکر است که معیار معلولیت ذهنی در انسان ها، ضریب هوشی ۷۰ به پائین است. همچنین هایپوتونی، چین های اپی کانتیک، زبان بیرون زده، ناهنجاری قلبی(۴۵-۴۰٪)، لوسمی و ناباروری (مخصوصا در مردان) اشاره کرد. همچنین این افراد به علت افزایش دوزاژ ژن پیش ساز امیلوئید (APP)، مستعد آلزایمر نیز می باشند. ۵۰٪ این بیماران دارای خط منفرد کف دست[۱۷] می باشند که در ۲-۳٪ از جمعیت عمومی هم دیده می شود. فاصله زیاد بین انگشتان اول و دوم پا[۱۸] ، لکه های ریز سفید رنگ در چشم[۱۹] از دیگر علایم این بیماری است. اکثر این بیماران تنها تا اویل کودکی زنده می مانند و به علت مشکلات قلبی که در ۴۰-۴۵٪ مبتلایان وجود دارد، فوت می کنند.



شکل ۱-۲: علائم مربوط به فرد مبتلا به تریزومی ۲۱ (۳)

[17] Simian Crease
[18] Sandal gap
[19] Brush field spots

تشخیص و غربالگری

مرکز زنان و بارداری آمریکا[20] (ACOG) و انستیتیو ملی سلامت و درمان[21] (NICE)، غربالگری سندرم داون را به تمامی زنان باردار صرف نظر از سن شان توصیه می کنند(۱۱),(۱۲). هر یک از متدهای غربالگری برای سندرم داون سطوح مختلفی از دقت و تهاجم را دارند. این تست ها برای افزایش نرخ تشخیص و کاهش نرخ مثبت کاذب معمولا بصورت ترکیبی به کار می روند. هر یک از این تست ها در ادامه توضیح داده خواهند شد.

جدول۱-۱ غربالگری سندرم داون

شرح	نرخ مثبت کاذب	نرخ تشخیصی	(هفته بارداری)	غربالگری
استفاده از اولتراسوند برای بررسی شفافیت گردنی و تست سرم. تائید کرده است که تست سه ماهه اول از متدهای غربالگری سه ماهه دوم دقت بالاتری دارد.	۵٪	۸۵٪	۱۰-۱۳/۵	**تست ترکیبی (افزایش شفافیت گردنی/ beta-hCG آزاد/ PAPP-A)**
بررسی آلفافیتوپروتئین، استریول غیرکونژوگه، beta-hCG و inhibin –alpha	۵٪	۸۱٪	۱۵-۲۰	**غربالگری چهارگانه**
بررسی نتایج تست های قبلی	۵٪	۹۵٪	۱۵-۲۰	**ترکیب تمام نتایج**

[20] American Congress of Obstetricians and Gynecologists

[21] National Institute for Health and Care Excellence