



GC number:.....

رضایت نامه تست غربالگری و تشخیص ژنتیکی پیش از لانه گزینی PGT-M (Preimplantation Genetic Testing - Molecular)

هدف از انجام غربالگری و تشخیص قبل از لانه گزینی

تشخیص بیماری‌های ژنتیک قبل از لانه‌گزینی تکنیکی است که همزمان با IVF انجام می‌شود. تشخیص قبل از لانه‌گزینی به منظور شناسایی رویان‌های طبیعی جهت انتقال استفاده می‌شود.

پس از مشاوره ژنتیک و بررسی سابقه خانوادگی خانم و آقا برای یک یا چند بیماری تک ژنی، آزمون PGT-M انجام خواهد شد. در این تست تنها ژن یا ژنهایی که توسط پزشک درخواست داده شده، بررسی می‌شوند.

در تست PGT-M تنها واریانت شناخته شده در خانواده بررسی می‌شود و این تست شامل موارد دیگر نمی‌شود.

اهمیت انجام تست PGT-M:

اولین و مهم‌ترین علت انجام آزمایش PGT-M این است که با شناسایی بیماری ژنتیکی مد نظر می‌توان از لانه‌گزینی جنین‌های مبتلا پیشگیری کرد و در نتیجه می‌توان از تولد نوزادانی با بیماری‌هایی تک ژنی مثل تالاسمی و ناشنوایی و ... جلوگیری کرد. ضمناً در رابطه با بیماری‌هایی که در سنین بالا علائم آن‌ها بروز می‌کند و اجازه سقط درمانی ندارند، بهترین گزینه برای داشتن فرزند سالم PGT-M می‌باشد.

بیماری تک‌ژنی چیست؟

بیماری تک‌ژنی single gene disorder به آن دسته از بیماری‌ها گفته می‌شود که تنها اختلال در یک ژن منفرد علت ایجاد بیماری باشد. از این رو بروز آن در بین خانواده‌ها قابل ردیابی و در بین نسل‌ها قابل پیش‌بینی می‌باشد. تاکنون تعداد زیادی بیماری تک ژنی شناسایی شده ولی با این وجود این اختلالات بسیار نادر بوده و در کل، عامل یک درصد از بیماری‌های بشری می‌باشند.

فرم تغییر یافته و دچار اختلال، از ژن مسئول این نوع از بیماری‌ها را فرم جهش یافته (mutant) می‌نامند و براساس الگوی توارث این ژن معیوب در بین نسل‌ها و خانواده‌ها، بیماری‌های تک‌ژنی به سه گروه عمده تقسیم می‌شود:

• **توارث تک ژنی غالب:** در هر فرد دو نسخه از هر ژن وجود دارد که آلل (Allele) نامیده می‌شود. در توارث تک ژنی غالب، ژن جهش یافته در مقایسه با فرم معمولی یا وحشی (wild type) قوی‌تر بوده و لذا اگر در یک صفت خاص، تنها یک الل فرد جهش یافته باشد، فرد مبتلاست. در چنین حالتی اگر یکی از والدین بیمار و دیگری سالم باشد، شانس به ارث بردن این اختلال برای هر فرزند ۵۰ درصد است. در هر فرد مبتلا حداقل یکی از والدین دارای این اختلال بوده که ممکن است بیماری او مشهود نباشد و یا در سنین بالا بیماری خود را نشان دهد و یا تشخیص داده نشده باشد. اگر چه گاهی اوقات بیماری با توارث تک ژنی غالب حاصل یک جهش جدید در ژنوم فرد است (de novo).

• **توارث تک ژنی مغلوب:** در این دسته از بیماری‌ها ژن معیوب (جهش یافته) در مقابل ژن سالم (Wild type) بی اثر می‌باشد بنابراین بیماری در فرد زمانی ظاهر خواهد شد که هر دو نسخه ژن مورد نظر دچار نقص باشند. در چنین حالتی اگر یکی از والدین بیمار و دیگری سالم باشد بیماری به فرزندان منتقل نخواهد شد بلکه همه آن‌ها را حامل یک نسخه از ژن معیوب خواهد کرد. در ازدواج دو فرد به ظاهر سالم که حامل ژن معیوب باشند احتمال بروز بیماری در هر بارداری ۲۵ درصد است. در این دسته از بیماری‌های ژنتیکی ازدواج میان افراد منسوب (ازدواج فامیلی) دارای اهمیت است و خصوصاً در مواردی که سابقه بیماری در نسل‌های قبل‌تر موجود است مشاوره ژنتیک برای پیشگیری از تولد افراد بیمار ضرورت خواهد یافت.

بیماری‌های تک ژنی چه غالب و چه مغلوب تمایل به بروز در هر دو جنس با نسبتی برابر دارند.

• **توارث وابسته به جنس:** مردها یک نسخه از کروموزوم X و زن‌ها دو نسخه از کروموزوم X دارند بنابراین از هر ژن موجود بر روی کروموزوم X دو نسخه در زنان وجود دارد.



TE-MPX-FO-010/07

اولین دارنده استاندارد بین‌المللی آزمایشگاه‌های پزشکی ISO-15189 در ایران



اگر ژن موجود بر روی کروموزوم X جهش پیدا کند تاثیر آن به این بستگی دارد که فرد حاوی ژن جهش یافته مرد باشد یا زن. اگر یک نسخه از یک ژن در زن جهش یابد به دلیل وجود دو نسخه از ژن و اینکه نسخه دیگر سالم است فرد عموماً سالم است و حامل ژن جهش یافته است ولی ممکن است فرد اثرات کمی از بیماری را نشان دهد که بسیار خفیف تر از یک مرد است. در صورتی که یک مادر حامل بیماری باشد، فرزندان دختر او عموماً سالم هستند و هر دختر به احتمال ۵۰ درصد حامل بیماری است ولی اگر فرزند او پسر باشد، احتمال ابتلا او به بیماری ۵۰ درصد است.

در صورتی که پدر واجد کروموزوم X جهش یافته باشد، چون تنها دارای یک نسخه از این کروموزوم است، مبتلا به بیماری است. تمام دختران این فرد عموماً سالم ولی ناقل بیماری هستند و تمام پسران او سالم خواهند بود.

روند انجام آزمایش

- پس از انجام مشاوره با والدین و بررسی سوابق بیماری خانواده هر دو والد، فرم تایید امکان انجام PGT-M در خانواده توسط بخش PGT-M و بخش بالینی بررسی میشود. در این مرحله درخواست خونگیری از افراد مورد نیاز در خانواده (والدین زوجین/ بچه یا جنین /خواهر برادر زوجین) انجام شده لازم به ذکر است در صورتی که افراد تعیین شده در دسترس نباشند انجام PGT-M به صورت غیر مستقیم ممکن نیست.
- واریانت یا واریانت های مدنظر در خانواده به صورت مستقیم و غیر مستقیم (آنالیز پیوستگی) مورد بررسی قرار میگیرند و در نهایت شرایط انجام PGT-M در جواب کتبی بیمار قرار میگیرد.
- جواب Pre-PGT-M به سه صورت زیر میتواند باشد:
 - ❖ PGT-M در خانواده میتواند به صورت ترکیبی از روش های مستقیم و غیر مستقیم انجام گیرد.
 - ❖ PGT-M در خانواده تنها با روش مستقیم و در صورتی که خانواده ریسک Allele Drop Out (ADO) را بپذیرد (برای تک سلول حدود ۱۱٪ و برای دو یا سه سلول حدود ۲٪) قابل انجام است.
 - این مورد اغلب در خانواده هایی که رابطه خویشاوندی دارند شایع می باشد.
 - انجام PGT-M با این شرایط برای خانواده هایی که بیماری با وراثت غالب دارند توصیه نمی شود.
 - ❖ ممکن است ناحیه جهش به صورت مستقیم قابل بررسی نباشد در این موارد انجام PGT-M تنها با روش غیر مستقیم و در صورتی که افراد مبتلای دیگر و افراد سالم برای خوندهی در خانواده در دسترس باشند، انجام می پذیرد.
 - ❖ در موارد معدودی ممکن است انجام PGT-M به علت تفکیک نشدن واریانت در خانواده یا دلایل تکنیکال برای خانواده امکان پذیر نباشد که در ان صورت با توجه به اینکه برای خانواده تست انجام شده (مواد مصرف شده است) هزینه Pre-PGT-M مسترد نمی شود.
- اگر نمونه توسط آزمایشگاه دیگری (طرف قرارداد) ارسال شود، مسئولیت مطابقت بالینی و تایید بیماریزا بودن واریانت بر عهده آزمایشگاه ارسال کننده نمونه می باشد. خانواده برای مشاوره ژنتیک بایستی به آزمایشگاه ارجاع دهنده مراجعه کند.
- پس از انجام IVF، از جنین به دست آمده بیوپسی به عمل آمده و سلول ها پس از جداسازی به مرکز پاتولوژی و ژنتیک کریمی نژاد نجم آبادی ارسال می شوند.
- برای تشخیص بیماری های تک ژنی (PGT-M) دو تکنیک به طور گسترده از ابتدا تا کنون مورد استفاده قرار میگیرند: Nested PCR و تکثیر کل ژنومی (WGA). یکی از معضلات اصلی در رابطه با Nested PCR احتمال آلودگی بالا در این تکنیک است. از طرف دیگر محدود بودن DNA اولیه باعث افزایش احتمال نتایج کاذب مثبت و منفی به دلیل پدیده هایی چون دراپ شدن یک ال (ADO) و یا عدم تکثیر یکپارچه ژنوم می شود.
- Nested PCR جزو اولین تکنیک هایی بود که در رابطه PGT-M به کار برده میشد با گذشت زمان تکنیک های معتبرتر که بر پایه تکثیر کل ژنوم بودند گسترش یافتند. در حال حاضر بهترین تکنیک شناخته شده در این زمینه نوعی از WGA می باشد که تکنیک MDA (Multiple Displacement Amplification) نام دارد این تکنیک نسبت به روش های قدیمی تر مزایایی دارد که در ادامه به آن ها میپردازیم: تکثیر کل ژنوم پوشش بهتر و بدون نقصی را از ماده ژنتیکی اولیه ارائه میدهد (۸۰٪ در مقایسه با ۴۰٪ در تکنیک های قدیمی تر) به دلیل احتمال پایین ADO احتمال نتایج مثبت کاذب به طور چشمگیری کاهش یافته است (۲-۱۰٪ نسبت ۷۶٪ در تکنیک های قدیمی تر)
- تکنیک های جدید MDA حجم زیادی از قطعات بلند DNA ایجاد میکند در صورتی که در تکنیک قدیمی حجم DNA اولیه بسار محدود و قطعه قطعه شده بود. حجم بالای DNA ژنومی تکثیر شده امکان نگهداری WGA رویان ها تا یک سال بعد از تولد را به ما میدهند.



TE-MPX-FO-010/07

اولین دارنده استاندارد بین المللی آزمایشگاه های پزشکی ISO-15189 در ایران



باتوجه به موارد ذکر شده از آنجائیکه هدف ما انجام تست با بالاترین استانداردهای جهانی و بیشترین دقت ممکن است از بروزترین و معتبرترین کیت های تجاری استفاده می کنیم.

- پس از تکثیر DNA، به روش Sanger sequencing و fragment analysis مطالعه بر روی ژن رویان انجام می پذیرد.
- انتقال جنین ها بایستی بر اساس گزارش نهایی مرکز پاتولوژی و ژنتیک کریمی نژاد انجام شود، مسئولیت هرگونه جابه جایی در نمونه ها بر عهده این مرکز نمی باشد.
- جواب کتبی مستقیما به مرکز نازایی - ناباروری ارسال می گردد و به بیمار ارائه نمی شود.

محدودیت های تست PGT-M

➤ در مواردی ممکن است وضعیت رویان با نتیجه بدست آمده متفاوت باشد. شایع ترین علت این اتفاق وجود موزائیسیم در رویان است. موزائیسیم زمانی است که سلول مورد آزمون با دیگر سلول های جنین از نظر ژنتیکی تفاوت داشته باشد.

* (براساس دستورالعمل بین المللی ESHRE لازم است تمامی خانم هایی که با روش PGT باردار میشوند، در هفته پانزدهم الی شانزدهم بارداری برای تشخیص قبل از تولد ناهنجاری ژنتیکی مربوطه مراجعه کنند. تشخیص مولکولی جهش مورد نظر برای همه بارداری های حاصل از این تکنیک به صورت رایگان انجام می شود.))

*ESHRE PGT Consortium good practice recommendations for the organization of PGT: ESHRE PGT Consortium Steering Committee; Filipa Carvalho et al.

در صورتی که با تمایل شخصی و یا با تشخیص پزشک زنان تصمیم گرفتیم که تایید ژنتیکی روی مایع آمنیون انجام نشود از عواقب آن مطلع هستیم و خطرات آن را می پذیریم.

- احتمال عدم جوابدهی تست های ژنتیکی به هر کدام از علل فنی یا غیر مترقبه وجود دارد.
 - احتمال دارد دریک سیکل رویان سالم برای انتقال وجود نداشته باشد.
 - تست PGT-M تنها برای یک یا چند ژنی که مورد نظر است انجام می پذیرد، لذا سایر ژن های فرد و احتمال اختلالات در آنها مورد مطالعه قرار نخواهد گرفت.
 - این احتمال وجود دارد که به علت کیفیت پایین نمونه ارسالی، نتیجه تکثیر کل ژنوم برای انجام آزمایش PGT-M قابل قبول نباشد.
- هزینه تست غربالگری قبل از لانه گزینی توضیح داده شد و همچنین نیاز به انجام تشخیص قبل از تولد در بارداری را متوجه شدیم.
- چنانچه هر اتفاقی در این رابطه بیفتد کلیه متخصصین مرکز ناباروری و نازایی و مرکز پاتولوژی و ژنتیک کریمی نژاد - نجم آبادی را بری الذمه دانسته و جای هیچگونه اعتراضی در آینده نخواهیم داشت. هم چنین اینجانبان هزینه اضافه WGA که توسط بیمه پرداخت نمیشود را متقبل می شویم.

به اینجانبان / اینجانبان توضیح داده شد که ممکن است از نتایج فنی تست انجام شده برای اهداف علمی، تحقیقاتی با حفظ محرمانگی اطلاعات هویتی استفاده شود که بدین وسیله موافقت خود را با این موضوع اعلام می نمایم.

ضمنا توضیح داده شد که آزمایشگاه موظف است اطلاعات فنی را در صورت درخواست مراجع کشوری طبق آیین نامه های مصوب وزارت بهداشت در اختیار سازمان های مربوطه قرار دهد. اینجانبان / اینجانبان امضاء کنندگان این رضایت نامه پس از مطالعه کلیه موارد ذکر شده در رضایت نامه و دریافت توضیحات و داشتن فرصت کافی برای پرسش و پاسخ، بطور آگاهانه و در شرایط فاقد هرگونه فشار و اصرار و با آگاهی کامل از احتمالات مطرح شده در انجام تست های مذکور و عواقب احتمالی روحی و روانی و فیزیکی آن، این رضایت نامه را امضا می کنم و از مرکز درخواست انجام آزمایش را دارم. بدیهی است بعد از پذیرش آزمایش حذف آن امکانپذیر نیست.

□ اینجانبان مایل به انجام تست PGT-M در سیکل رویان های حاصل از لقاح در تاریخ:/...../..... می باشیم.

نام و نام خانوادگی خانم: امضاء خانم: تاریخ:/...../.....

نام و نام خانوادگی آقا: امضاء آقا: تاریخ:/...../.....

مشاور: امضا: تاریخ:/...../.....



TE-MPX-FO-010/07

اولین دارنده استاندارد بین المللی آزمایشگاه های پزشکی ISO-15189 در ایران