Review Article

Prenatal Diagnostic Methods for Inherited Hematologic Disorders: A Review of Hemophilia, Thalassemia, and Sickle Cell Disease

Hassan Mirahmadi Houtki[1], *Mehrad Dehdashti*[1], *Zahra Khoshnegah*[1], *Aida Nejad Shahbodaghi*[1], *Khatere Hatami*[1], *Fatemeh Zeighaminezhad*[1], *Reyhaneh Hosseini*[1], *Hajar Mardani Valandani*[1], *Ali Afgar*[1], *Tahereh Haghpanah*[1], *Roohollah Mirzaee Khalilabadi*[1]

[1]*School of Allied Medical Sciences, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran*

Received: 2026/07/12
Accepted: 2026/10/24

http://dx.doi.org/10.61882/bloodj.22.3.183

Citation:
Mirahmadi Houtki H, Dehdashti M, Khoshnegah Z, Nejad Shahbodaghi A, Hatami Kh, Zeighaminezhad F, Hosseini R, Mardani Valandani H, Afgar A, Haghpanah T, Mirzaee Khalilabadi R. Prenatal Diagnostic Methods for Inherited Hematologic Disorders: A Review of Hemophilia, Thalassemia, and Sickle Cell Disease. J Iran Blood Transfus. 2026: 23 (3): 266-274

Correspondence: Mirzaei Khalil Abadi, Associate Professor of School of Allied Medical Sciences, Kerman University of Medical Sciences.
Postal Code: 7616911333, Kerman, Iran.
Tel: (+9834) 31336730
E-mail:
khalilabadi60@gmail.com

ABSTRACT

Background and Objectives

Hemophilia, thalassemia, and sickle cell disease (SCD) are inherited hematologic disorders associated with important clinical consequences. Prenatal diagnosis can clarify the risk of disease transmission for families and inform clinical and reproductive decisions. Despite advances in molecular diagnosis, the choice of diagnostic approach depends on the type of genetic variation, gestational age, specimen quality, and availability of appropriate technologies. This narrative review summarizes prenatal diagnostic methods for the three aforementioned disorders focusing on their underlying principles, clinical applications and limitations.

Materials and Methods

English-language articles published between 2000 and 2025 were searched in PubMed, Scopus, and Web of Science. Earlier key publications were also consulted to provide historical context. The review covered carrier screening, fetal sampling, molecular assays, cell-free fetal DNA-based non-invasive diagnosis, and preimplantation genetic testing, no formal assessment of methodological quality was performed.

Results

Chorionic villus sampling and amniocentesis remain established approaches for obtaining fetal material for molecular diagnosis. The selection of molecular assays, including allele-specific PCR, Gap-PCR, linkage analysis, sequencing, and copy-number assays depends on the nature of the variant type. Droplet digital PCR and targeted sequencing of cell-free fetal DNA have shown promise in selected setting. However, their clinical application remains constrained by low fetal DNA fractions, discrimination of maternal and fetal alleles, and limited clinical evidence. Preimplantation genetic testing is an alternative option for eligible couples before pregnancy.

Conclusions

An appropriate diagnostic strategy integrates carrier identification, genetic counseling, and selection of a test suited to the causal genetic variant and clinical context. Non-invasive approaches and advanced sequencing technologies hold promise for future applications, but their clinical use should be guided by available evidence and assay-specific validation.

Keywords: Prenatal Diagnosis, Hemophilia, Thalassemia, Sickle cell Disease

Copyright © 2025 Journal of Iranian Blood Transfusion, Published by Blood Transfusion Research Center.
This work is licensed under a Creative Common Attribution-Non Commercial 4.0 International license.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-18]

خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۲۳ شماره ۳ پائیز ۱۴۰۵ (۲۷۴-۲۶۶)

مقاله مروری

روش‌های تشخیصی پیش از تولد در اختلالات ارثی خونی: مروری بر هموفیلی، تالاسمی و بیماری سلول داسی‌شکل

حسن میر احمدی هوتکی[۱]، مهراد دهدشتی[۱]، زهرا خوش نگاه[۲]، آیدا نژاد شاهبداغی[۱]، خاطره حاتمی[۳]، فاطمه ضیغمی‌نژاد[۳]، ریحانه حسینی[۳]، هاجر مردانی ولندانی[۴]، علی افگار[۵]، طاهره حق پناه[۶]، روح‌اله میرزایی خلیل‌آبادی[۴]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد هماتولوژی و بانک خون ـ دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان ـ کرمان ـ ایران
۲- دانشجوی دکترای تخصصی هماتولوژی و بانک خون ـ دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان ـ کرمان ـ ایران
۳- کارشناس علوم آزمایشگاهی ـ دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان ـ کرمان ـ ایران
۴- دکترای تخصصی هماتولوژی و بانک خون ـ دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان ـ کرمان ـ ایران
۵- دکترای تخصصی بیوتکنولوژی پزشکی ـ مرکز تحقیقات کیست هیداتید ـ دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان ـ کرمان ـ ایران
۶- دکترای تخصصی بیولوژی تولید مثل ـ دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان ـ کرمان ـ ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۴/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۸/۰۲

http://dx.doi.org/10.61882/bloodj.22.3.183

Citation:
Mirahmadi Houtki H, Dehdashti M, Khoshnegah Z, Nejad Shahbodaghi A, Hatami Kh, Zeighaminezhad F, Hosseini R, Mardani Valandani H, Afgar A, Haghpanah T, Mirzaee Khalilabadi R. Prenatal Diagnostic Methods for Inherited Hematologic Disorders: A Review of Hemophilia, Thalassemia, and Sickle Cell Disease. J Iran Blood Transfus. 2026: 23 (3): 266-274

نویسنده مسئول:
دکتر روح‌اله میرزایی خلیل‌آبادی. دانشیار دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان ـ کرمان ـ ایران
کد پستی: ۷۶۱۶۹۱۱۳۳۳
E-mail: *khalilabadi60@gmail.com*

چکیده

سابقه و هدف

هموفیلی، تالاسمی و بیماری سلول داسی‌شکل، اختلالات ارثی خونی با پیامدهای بالینی مهم‌اند. تشخیص پیش از تولد می‌تواند خطر انتقال بیماری را برای خانواده‌ها روشن کند و در تصمیم‌گیری‌های بالینی و باروری نقش داشته باشد. با وجود پیشرفت روش‌های مولکولی، انتخاب روش مناسب به نوع تغییر ژنتیکی، زمان بارداری، کیفیت نمونه و دسترسی به فناوری وابسته است. هدف این مرور، بررسی روش‌های تشخیصی پیش از تولد بر اساس عملکرد، کاربردها و محدودیت‌های آن‌ها در سه اختلال یادشده است.

مواد و روش‌ها

این مرور روایتی بر پایه جست‌وجوی مقالات انگلیسی زبان منتشرشده از سال ۲۰۰۰ تا ۲۰۲۵ در پایگاه‌های Scopus ،PubMed و Web of Science انجام شد. منابع کلیدی قدیمی‌تر نیز برای توضیح زمینه تاریخی استفاده شدند. مقالات مرتبط با غربالگری ناقلین، نمونه‌گیری جنینی، آزمون‌های مولکولی، تشخیص غیرتهاجمی مبتنی بر DNA آزاد جنینی و تشخیص ژنتیکی پیش از لانه‌گزینی بررسی شدند. ارزیابی رسمی کیفیت مطالعات انجام نشد.

یافته‌ها

نمونه‌برداری از پرزهای کوریونی و آمنیوسنتز نمونه لازم برای تشخیص مولکولی را فراهم می‌کنند و هم‌چنان در بسیاری از موقعیت‌ها روش‌های تثبیت‌شده تشخیص پیش از تولد هستند. PCR اختصاصی آلل، Gap-PCR، تحلیل پیوستگی، توالی‌یابی و روش‌های بررسی تغییرات تعداد نسخه بر اساس نوع واریانت انتخاب می‌شوند. ddPCR و توالی‌یابی هدفمند DNA آزاد جنینی در مطالعات منتخب برای برخی اختلالات تک‌ژنی امیدبخش بوده‌اند، اما محدودیت‌هایی مانند میزان کم DNA جنینی، تفکیک آلل مادری و جنینی و شواهد بالینی محدود وجود دارند. تشخیص ژنتیکی پیش از لانه‌گزینی (PGT) نیز گزینه‌ای پیش از بارداری برای خانواده‌های واجد شرایط است.

نتیجه‌گیری

رویکرد مناسب، ترکیبی از شناسایی ناقلین، مشاوره ژنتیک و انتخاب آزمون، متناسب با تغییر ژنتیکی و شرایط بالینی است. روش‌های غیرتهاجمی و توالی‌یابی پیشرفته ظرفیت توسعه دارند، اما دامنه کاربرد آن‌ها باید بر اساس شواهد معتبر و اعتبارسنجی هر آزمون تعیین شود.

کلمات کلیدی: تشخیص پیش از تولد، هموفیلی، تالاسمی، بیماری سلول داسی شکل

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-18]

مقدمه

اختلالات ارثی خونی، از جمله هموفیلی، تالاسمی و بیماری سلول داسی‌شکل، در بسیاری از جمعیت‌ها بار بالینی و اجتماعی قابل‌توجهی ایجاد می‌کنند (۴-۱). شدت بیماری، الگوی وراثت و نوع تغییر ژنتیکی در این اختلالات متفاوت است؛ ازاین‌رو تشخیص پیش از تولد به یک راهبرد واحد محدود نمی‌شود و باید با توجه به بیماری و واریانت خانوادگی طراحی شود.

تشخیص پیش از تولد معمولاً پس از شناسایی والدین یا خانواده‌های در معرض خطر و مشاوره ژنتیک مطرح می‌شود. نمونه‌برداری از پرزهای کوریونی (CVS) و آمنیوسنتز امکان بررسی مستقیم DNA جنینی را فراهم می‌کنند؛ در مقابل، روش‌های مبتنی بر DNA آزاد جنینی در پلاسمای مادر (cffDNA) می‌کوشند بدون نمونه‌گیری تهاجمی، اطلاعات ژنتیکی جنین را به دست آورند (۷-۵). تشخیص ژنتیکی پیش از لانه‌گزینی (PGT) نیز پیش از انتقال جنین حاصل از لقاح آزمایشگاهی انجام می‌شود و از نظر زمان و زمینه بالینی با تشخیص دوران بارداری تفاوت دارد.

روش‌های مولکولی از نظر دامنه شناسایی و محدودیت یکسان نیستند. آزمون‌های هدفمند مانند ARMS-PCR برای واریانت مشخص مناسب‌اند؛ Gap-PCR و روش‌های بررسی تغییرات تعداد نسخه برای برخی حذف‌ها کاربرد دارند؛ و توالی‌یابی می‌تواند طیف گسترده‌تری از تغییرات را بررسی کند. با این حال، نتیجه قابل اعتماد به طراحی آزمون، شناخت واریانت خانوادگی، کنترل آلودگی با سلول‌های مادری و تفسیر درست داده‌ها وابسته است. روش‌های غیرتهاجمی نیز با چالش‌هایی از جمله سهم کم DNA جنینی و دشواری تفکیک آلل مادری از جنینی روبه‌رو هستند.

با توجه به تفاوت‌های فنی و بالینی این فناوری‌ها، هدف مقاله حاضر ارائه مروری روایتی و روش‌محور بر اساس عملکرد، نوع نمونه، کاربرد، مزایا و محدودیت‌های روش‌های تشخیصی پیش از تولد در هموفیلی، تالاسمی و بیماری سلول داسی یا SCD است. هم چنین نشان داده می‌شود که ویژگی‌های ژنتیکی هر بیماری چگونه بر انتخاب روش اثر می‌گذارند.

مواد و روش‌ها

این مقاله یک مرور روایتی است. بر اساس نسخه اولیه مقاله، مقالات انگلیسی زبان منتشر شده از سال ۲۰۰۰ تا ۲۰۲۵ در پایگاه‌های PubMed، Scopus و Web of Science جست‌وجو شده‌اند و منابع کلیدی قدیمی‌تر نیز برای زمینه تاریخی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. دامنه مرور شامل روش‌های غربالگری ناقلین، نمونه‌گیری تهاجمی، آزمون‌های مولکولی، تشخیص مبتنی بر cffDNA و PGT در هموفیلی، تالاسمی و بیماری سلولی داسی است. از آن جا که مرور روایتی بوده است، ارزیابی رسمی خطر سوگیری و کیفیت مطالعات انجام نشده و نتایج نباید به‌عنوان برآورد نظام‌مند عملکرد همه آزمون‌ها تفسیر شوند.

۱- شناسایی افراد در معرض خطر و غربالگری ناقلین:

شناسایی والدین ناقل یا خانواده‌های دارای سابقه بیماری، نقطه آغاز مسیر تشخیص پیش از تولد است. در تالاسمی، شمارش کامل خون و شاخص‌هایی مانند MCV و MCH می‌توانند میکروسیتوز را آشکار کنند؛ بررسی فریتین در صورت احتمال کمبود آهن و اندازه‌گیری هموگلوبین با الکتروفورز یا HPLC به تفسیر کمک می‌کند. با این حال، برخی ناقلین آلفا تالاسمی ممکن است با آزمون‌های هماتولوژیک معمول شناسایی نشوند و بررسی DNA لازم شود (۱۰-۸) . بررسی وضعیت همسر و مشاوره ژنتیک برای برآورد خطر جنین اهمیت دارد. برنامه غربالگری تالاسمی در ایران نمونه‌ای از رویکرد جمعیتی برای شناسایی زوج‌های در معرض خطر است (۱۱).

در هموفیلی، سابقه خانوادگی و تعیین وضعیت ژنتیکی مادر می‌توانند مسیر آزمون را هدایت کنند. با این حال، نبود سابقه خانوادگی بیماری را رد نمی‌کند؛ جهش جدید یا موزائیسم ژرم‌لاین ممکن است رخ دهد. در SCD نیز شناسایی واریانت‌های والدین و تعیین ژنوتیپ آن‌ها برای برآورد خطر جنین ضروری است (۱۳، ۱۲، ۴). غربالگری ناقلین با تشخیص قطعی جنین مبتلا یکسان نیست؛ در صورت وجود خطر، آزمون تشخیصی متناسب با واریانت خانوادگی باید انتخاب شود.

۲- روش‌های نمونه‌گیری جنینی:

نمونه‌گیری تهاجمی، DNA یا سلول‌های جنینی لازم برای آزمایش مولکولی را فراهم می‌کند. انتخاب روش به سن بارداری، اندیکاسیون بالینی، تجربه مرکز و آزمون موردنیاز بستگی دارد. مقادیر خطر سقط گزارش شده در مطالعات جدید از برآوردهای قدیمی کمتر است، اما خطر فردی به شرایط بالینی و مهارت مرکز وابسته است؛ بنابراین باید از

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-18]

ارائه یک عدد ثابت به عنوان خطر قطعی برای همه مراکز خودداری کرد (۷، ۶) .

۲-۱: نمونه‌برداری از پرزهای کوریونی (CVS):

CVS معمولاً در سه‌ماهه اول بارداری انجام می‌شود و نمونه پرزهای کوریونی برای استخراج DNA و بررسی واریانت شناخته شده یا هاپلوتایپ خانوادگی به کار می‌رود. مزیت مهم آن امکان دریافت پاسخ ژنتیکی زودتر از آمنیوسنتز است. کنترل آلودگی با سلول‌های مادری (MCC) ضروری است، زیرا ورود DNA مادری می‌تواند تفسیر ژنوتیپ جنین را مختل کند (۱۵، ۱۴).

۲-۲: آمنیوسنتز:

آمنیوسنتز معمولاً از هفته پانزدهم بارداری به بعد انجام می‌شود و سلول‌های موجود در مایع آمنیوتیک برای استخراج DNA و بررسی ژنتیکی استفاده می‌شوند. در تشخیص مولکولی هموفیلی، تالاسمی و SCD ، نتیجه بر تحلیل DNA استوار است؛ سنجش فاکتور انعقادی در مایع آمنیوتیک جایگزین آزمون ژنتیکی نیست (۱۶).

۲-۳: کوردوسنتز:

کوردوسنتز نمونه خون جنین را فراهم می‌کند و امروزه برای تشخیص مولکولی روتین بسیاری از اختلالات تک‌ژنی انتخاب نخست نیست. این روش ممکن است در موقعیت‌های منتخب، از جمله هنگامی که نمونه‌گیری قبلی ناموفق یا غیرقابل تفسیر بوده است، مطرح شود؛ بااین‌حال، به دلیل خطر عوارض بیشتر باید اندیکاسیون آن با دقت ارزیابی شود (۱۴).

۳- روش‌های مولکولی تشخیص:

پس از دریافت نمونه مناسب، روش مولکولی باید بر اساس نوع تغییر ژنتیکی مورد انتظار انتخاب شود. آزمون هدفمند برای واریانت شناخته‌شده معمولاً ساده‌تر از جست‌وجوی گسترده تغییرات است؛ در مقابل، تغییرات ساختاری، حذف‌ها یا واریانت‌های ناشناخته ممکن است به روش‌های مکمل نیاز داشته باشند. کنترل کیفیت نمونه، تأیید هویت نمونه و بررسی آلودگی مادری بخش ضروری تفسیر نتیجه‌اند.

۳-۱: روش‌های مبتنی بر PCR و آزمون‌های هدفمند:

ARMS-PCR یا PCR اختصاصی آلل بر تفاوت اتصال آغازگر به آلل هدف تکیه دارد و برای شناسایی واریانت‌های شناخته شده، از جمله جهش مرتبط با HbS، قابل استفاده است. محدودیت آن این است که برای تغییرات هدف طراحی می‌شود و به‌تنهایی برای کشف همه واریانت‌های ناشناخته مناسب نیست. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) از تفاوت الگوی قطعات حاصل از برش آنزیمی برای تمایز ژنوتیپ‌ها استفاده می‌کند و در برخی راهبردهای تشخیص پیش از تولد به کار رفته است (۱۸، ۱۷).

Gap-PCR برای شناسایی حذف‌هایی که مرزهای آن‌ها شناخته شده است کاربرد دارد و در بررسی برخی حذف‌های ژن‌های آلفاگلوبین مفید است. MLPA (Multiple Ligation-dependent probe Amplification) می‌تواند تغییرات تعداد نسخه، از جمله حذف یا تکثیر قطعات ژنی، را بررسی کند. انتخاب میان این روش‌ها به نوع تغییر ژنتیکی و دامنه اعتبارسنجی آزمون وابسته است؛ هیچ‌یک را نباید بدون توجه به نوع واریانت، آزمون جامع برای همه اختلالات دانست (۱۰، ۸).

۳-۲: تحلیل پیوستگی و هاپلوتایپ:

در تحلیل غیرمستقیم، نشانگرهای ژنتیکی نزدیک ژن بیماری‌زا برای ردیابی هاپلوتایپ مرتبط با بیماری در خانواده استفاده می‌شوند. این رویکرد زمانی می‌تواند سودمند باشد که واریانت مستقیم به‌سادگی شناسایی نشود، اما به اطلاعات خانوادگی و نشانگرهای اطلاع‌رسان نیاز دارد و در معرض خطاهایی مانند نوترکیبی قرار دارد. در برخی راهبردهای PGT و تشخیص پیش از تولد هموفیلی، تحلیل پیوستگی در کنار ژنوتایپ مستقیم به کار رفته است (۲۰، ۱۹).

۳-۳: توالی‌یابی نسل جدید (NGS) :

NGS امکان بررسی هم‌زمان تعداد زیادی ناحیه ژنی را فراهم می‌کند و در شناسایی واریانت‌های ژن‌های $F8$ و $F9$ و بررسی تغییرات مرتبط با تالاسمی نقش دارد. در هموفیلی A ، بررسی وارونگی‌های اینترون ۲۲ و ۱، توالی‌یابی نواحی کدکننده و اتصال اگزون - اینترون و ارزیابی تغییرات تعداد نسخه می‌تواند به افزایش بازده تشخیص مولکولی کمک کند (۲۳-۲۱) . با این حال، توانایی شناسایی هر نوع تغییر به طراحی پنل، پوشش توالی، روش تحلیل و اعتبارسنجی آزمایشگاه وابسته است.

۳-۴: توالی‌یابی خوانش‌بلند و تحلیل جامع آلل‌های تالاسمی:

توالی‌یابی خوانش بلند (LRS) می‌تواند در تحلیل برخی

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-18]

نواحی ژنومی پیچیده، تکرارها و تغییرات ساختاری سودمند باشد. روش CATSA مبتنی بر LRS برای تحلیل جامع آلل‌های تالاسمی معرفی شده و می‌تواند در برخی موارد به تفکیک واریانت‌ها و وضعیت cis/trans کمک کند (۲۶-۲۴). این فناوری نویدبخش است، اما هزینه، دسترسی، زمان پاسخ و نیاز به اعتبارسنجی آزمایشگاهی باید در تصمیم‌گیری بالینی لحاظ شوند. بنابراین، نتایج آن باید در چارچوب شواهد موجود و ویژگی‌های آزمون تفسیر شوند.

۴- تشخیص غیرتهاجمی مبتنی بر DNA آزاد جنینی:

cffDNA موجود در پلاسمای مادر امکان بررسی اطلاعات ژنتیکی جنین را بدون نمونه‌گیری مستقیم از جنین فراهم می‌کند. چالش اصلی در اختلالات تک‌ژنی این است که DNA جنینی معمولاً با DNA مادری مخلوط است و سهم DNA جنینی می‌تواند کم باشد؛ در نتیجه، تشخیص آلل جنینی، به‌ویژه هنگامی که واریانت مادری و جنینی یکسان است، به راهبردهای تحلیلی حساس نیاز دارد (۵).

۴-۱: ddPCR و PCR دیجیتال:

در PCR دیجیتال، نمونه به تعداد زیادی واکنش مجزا تقسیم می‌شود و تعداد مولکول‌های هدف بر اساس الگوی واکنش‌های مثبت و منفی برآورد می‌شود. این ویژگی می‌تواند در بررسی نسبت آلل‌ها یا شناسایی تغییرات کم فراوانی در نمونه‌های پیچیده مفید باشد. مطالعاتی در هموفیلی، امکان تشخیص غیرتهاجمی با PCR دیجیتال و بررسی برخی واریانت‌ها یا وارونگی‌های F^8 را گزارش کرده‌اند؛ بااین‌حال، تعداد نمونه‌ها در مطالعات موجود محدود بوده و بخشی از نتایج ممکن است نامشخص باقی بماند (۲۹-۲۷) .

۴-۲: توالی‌یابی هدفمند و تحلیل هاپلوتایپ در پلاسمای مادر:

توالی‌یابی هدفمند و تحلیل هاپلوتایپ در cffDNA برای بررسی برخی موارد بتا تالاسمی مطالعه شده‌اند (۳۱، ۳۰). در راهبردهای پیشنهادی، گاهی ابتدا آلل پدری که در ژنوتیپ مادر وجود ندارد بررسی می‌شود و سپس در صورت لزوم، شواهد مربوط به آلل مادری ارزیابی می‌گردد. تفسیر باید بر اساس طراحی آزمون و داده‌های هر مطالعه انجام شود؛ نتیجه غیرتهاجمی در همه شرایط جایگزین نمونه‌گیری جنینی و تأیید تشخیصی نیست.

۴-۳: محدودیت‌های بالینی و تحلیلی:

محدودیت‌های اصلی شامل سهم کم cffDNA، تفاوت سهم آن در طول بارداری، دشواری تفکیک DNA مادری از جنینی، احتمال آلودگی یا خطای فنی، نیاز به شناخت واریانت‌های والدین و محدود بودن شواهد اعتبارسنجی برای برخی بیماری‌هاست. به همین دلیل، وضعیت روش‌های غیرتهاجمی باید به‌صورت آزمون‌محور و بر اساس شواهد منتشرشده توصیف شود؛ اصطلاح NIPT (Non-invasive prenatal testing) به‌تنهایی به معنای اعتبارسنجی برای تشخیص همه اختلالات تک‌ژنی نیست.

۵- تشخیص ژنتیکی پیش از لانه‌گزینی (PGT):

PGT در چرخه لقاح آزمایشگاهی انجام می‌شود و سلول یا سلول‌هایی از جنین پیش از انتقال به رحم برای بررسی ژنتیکی نمونه‌برداری می‌شوند. راهبرد تشخیص می‌تواند شامل ژنوتایپ مستقیم واریانت خانوادگی و در موارد مناسب تحلیل پیوستگی باشد. PGT برای خانواده‌هایی که خطر انتقال یک اختلال تک ژنی را دارند، از جمله برخی خانواده‌های مبتلا به هموفیلی یا هموگلوبینوپاتی‌ها، گزینه‌ای پیش از بارداری محسوب می‌شود (۲۰، ۱۹).

این روش با تشخیص پیش از تولد تفاوت دارد: تشخیص ژنتیکی پیش از لانه گزینی (PGT) پیش از انتقال جنین انجام می‌شود، درحالی‌که نمونه‌بردار از پرزهای کوریونی (CVS) و آمنیوسنتز در بارداری صورت می‌گیرند. هزینه، دسترسی، پیچیدگی فنی، احتمال نتیجه نامشخص و ملاحظات اخلاقی و ترجیحات خانواده باید در مشاوره مطرح شوند. انتخاب PGT یا تشخیص دوران بارداری تصمیمی فردمحور است و به وضعیت ژنتیکی، امکانات مرکز و ترجیحات آگاهانه خانواده بستگی دارد.

۶-کاربرد روش‌ها در سه اختلال ارثی خونی:

۶-۱: هموفیلی A و B:

هموفیلی A و B به ترتیب با واریانت‌های ژن‌های F^8 و F^9 مرتبط‌اند و الگوی وراثت آن‌ها معمولاً وابسته به کروموزوم X است. تشخیص مولکولی باید با توجه به طیف تغییرات ژنتیکی، از جمله وارونگی‌ها، واریانت‌های توالی و تغییرات تعداد نسخه طراحی شود (۲۳، ۲۲، ۴). در خانواده‌های دارای واریانت شناخته‌شده، CVS یا آمنیوسنتز می‌تواند DNA لازم برای تشخیص را فراهم کند. تعیین جنسیت جنین با شناسایی توالی‌های کروموزوم Y در پلاسمای مادر در برخی شرایط برای ارزیابی خطر کاربرد داشته است، اما به تنهایی تشخیص ژنتیکی هموفیلی نیست (۳۳، ۳۲).

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-18]

جدول ۱: مقایسه روش‌های اصلی تشخیص پیش از تولد

روش/ گروه روش	اساس عملکرد	نمونه معمول	کاربرد و مزیت	محدودیت مهم
CVS (معمولاً هفته‌های ۱۰ تا ۱۳)	دریافت پرزهای کوریونی برای استخراج DNA جنینی	پرزهای کوریونی	امکان آزمون ژنتیکی در سه‌ماهه اول	تهاجمی؛ کنترل آلودگی با سلول مادری ضروری است
آمنیوسنتز (معمولاً از هفته ۱۵)	دریافت سلول‌های موجود در مایع آمنیوتیک	مایع آمنیوتیک/آمنیوسیت	مناسب برای آزمون مولکولی جنین در بارداری	در مقایسه با CVS دیرتر انجام می‌شود؛ تهاجمی است
کوردوسنتز (موارد منتخب؛ معمولاً از حدود هفته ۱۸)	نمونه‌گیری خون جنین	خون جنین	کاربرد انتخابی در شرایط خاص یا پس از نمونه ناموفق	خطر عارضه بیشتر؛ روش انتخاب نخست برای بسیاری از آزمون‌های مولکولی نیست
ARMS-PCR / RFLP	شناسایی واریانت هدف یا تفاوت الگوی برش	DNA نمونه جنینی	ساده و هدفمند برای تغییرات شناخته‌شده	دامنه تشخیص محدود به طراحی آزمون
Gap-PCR / MLPA	شناسایی حذف‌های مشخص یا تغییرات تعداد نسخه	DNA نمونه جنینی	مناسب برای برخی حذف‌ها و تغییرات ساختاری	باید با نوع تغییر ژنتیکی و اعتبارسنجی آزمون متناسب باشد
NGS	توالی‌یابی هم‌زمان نواحی متعدد	DNA نمونه جنینی یا نمونه مناسب دیگر	بررسی گسترده‌تر واریانت‌ها	تفسیر داده و توان شناسایی به طراحی آزمون وابسته است
LRS/CATSA	توالی‌یابی قطعات بلند و تحلیل آلل‌های تالاسمی	DNA نمونه مورد بررسی	کمک به تحلیل برخی نواحی پیچیده و هاپلوتایپ‌ها	دسترسی، هزینه، زمان پاسخ و نیاز به اعتبارسنجی
cffDNA با ddPCR/توالی‌یابی هدفمند	تحلیل DNA جنینی مخلوط با DNA مادری	پلاسمای مادر	امکان بررسی غیرتهاجمی در موارد منتخب	سهم کم DNA جنینی و دشواری تفکیک آلل مادری/جنینی
PGT	بررسی ژنتیکی جنین پیش از انتقال به رحم	سلول‌های بیوپسی‌شده جنین حاصل از IVF	گزینه‌ای پیش از بارداری برای خانواده‌های واجد شرایط	هزینه، دسترسی و ملاحظات فنی و اخلاقی

اختصارات: CVS، نمونه‌برداری از پرزهای کوریونی؛ ARMS-PCR، تکثیر اختصاصی جهش؛ RFLP ، چندشکلی طول قطعات محدود شده؛ MLPA، تکثیر وابسته به اتصال پروب چندگانه؛ NGS، توالی‌یابی نسل جدید؛ LRS، توالی‌یابی خوانش‌بلند؛ DNA ،cffDNA آزاد جنینی؛ PCR ، ddPCR دیجیتال قطره‌ای؛ PGT، آزمایش ژنتیکی پیش از لانه‌گزینی؛ IVF، لقاح آزمایشگاهی.

روش‌های مبتنی بر cffDNA در مطالعات منتخب امیدوارکننده‌اند، ولی هنوز نباید فراتر از دامنه اعتبارسنجی‌شده هر آزمون تعمیم داده شوند (۲۹-۲۷).

۲-۶: آلفا و بتا تالاسمی:

در تالاسمی، راهبرد تشخیصی به نوع ژن و تغییر ژنتیکی بستگی دارد. برخی انواع آلفا تالاسمی با حذف ژن‌های آلفا مرتبط‌اند؛ ازاین‌رو Gap-PCR یا روش‌های بررسی تغییرات تعداد نسخه می‌توانند مناسب باشند. بتا تالاسمی می‌تواند ناشی از واریانت‌های گوناگون ژن *HBB* باشد و آزمون‌های هدفمند، توالی‌یابی یا روش‌های مکمل بر اساس واریانت خانوادگی انتخاب می‌شوند (۲۶-۲۴، ۱۰، ۸). غربالگری ناقلین و مشاوره ژنتیک نقش محوری دارند، اما آزمون‌های هماتولوژیک به تنهایی همه ناقلین را شناسایی نمی‌کنند. روش‌های غیرتهاجمی در بتا تالاسمی بررسی شده‌اند، اما تفسیر آن‌ها به سهم DNA جنینی و طراحی آزمون وابسته است (۳۱، ۳۰).

۳-۶: بیماری سلول داسی‌شکل:

SCD معمولاً با واریانت مشخصی در ژن *HBB* مرتبط است که منجر به تولید هموگلوبین S می‌شود. در زوج‌های در معرض خطر، تحلیل DNA نمونه CVS یا آمنیوسیت با روش‌های مولکولی متناسب با واریانت می‌تواند برای تشخیص پیش از تولد استفاده شود (۱۸، ۱۷، ۱۳).

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-18]

جدول ۲: تطبیق روش‌های تشخیصی با ویژگی‌های سه اختلال

اختلال	ویژگی ژنتیکی مرتبط	روش‌های مولکولی قابل استفاده	نکته تفسیری
هموفیلی A/B	واریانت‌های F۸/F۹؛ در هموفیلی A برخی وارونگی‌ها و تغییرات ساختاری	توالی‌یابی، بررسی وارونگی/-ARMS CNV، PCR یا تحلیل پیوستگی در موارد مناسب؛ آزمون‌های cffDNA در مطالعات منتخب	نبود سابقه خانوادگی بیماری را رد نمی‌کند؛ احتمال موزائیسم و آلودگی مادری باید در نظر گرفته شود
آلفا تالاسمی	اغلب حذف ژن‌های آلفا؛ انواع دیگر نیز وجود دارند	Gap-PCR، MLPA و در موارد منتخب توالی‌یابی یا روش‌های جامع‌تر	آزمون‌های هماتولوژیک معمول ممکن است برخی ناقلین را شناسایی نکنند
بتا تالاسمی	طیف متنوعی از واریانت‌های HBB	ARMS-PCR برای واریانت مشخص، توالی‌یابی، روش‌های تحلیل هاپلوتایپ و روش‌های منتخب cffDNA	انتخاب آزمون به واریانت والدین و توان شناسایی روش بستگی دارد
بیماری سلول داسی‌شکل	واریانت بیماری‌زای HBB مرتبط با HbS	آزمون مولکولی هدفمند مانند ARMS-PCR یا روش معتبر دیگر روی DNA جنینی	آزمون‌های سریع هموگلوبین برای غربالگری بیمار/ناقل، جایگزین تشخیص ژنتیکی پیش از تولد نیستند

این جدول چارچوب کلی انتخاب روش را نشان می‌دهد؛ آزمون نهایی باید بر اساس واریانت خانوادگی، امکانات آزمایشگاه و اعتبارسنجی بالینی انتخاب شود.

آزمون‌های سریع کنار بستر برای شناسایی هموگلوبین‌ها و غربالگری بیمار یا ناقل می‌توانند در محیط‌های کم‌منبع مفید باشند، اما نباید با آزمون تشخیصی پیش از تولد اشتباه شوند (۳۵، ۳۴، ۱۷). شواهد روش‌های غیرتهاجمی برای SCD محدودتر است و باید با احتیاط تفسیر شود (۳۶).

برای مقایسه سریع، اساس عملکرد، نوع نمونه، کاربرد و محدودیت روش‌های اصلی در جدول خلاصه شده است (جدول ۱). هم‌چنین، جدول ۲ نشان می‌دهد که ویژگی‌های ژنتیکی هر اختلال چگونه بر انتخاب روش مولکولی اثر می‌گذارند.

بحث

یافته‌های حاصل از مرور مقالات نشان می‌دهد که روش‌های تشخیص پیش از تولد را باید به عنوان زنجیره‌ای از تصمیم‌ها دید، نه مجموعه‌ای از فناوری‌های قابل جایگزینی. شناسایی افراد در معرض خطر و مشاوره ژنتیک پیش‌نیاز انتخاب آزمون است؛ سپس نوع نمونه و روش مولکولی بر اساس واریانت مورد انتظار تعیین می‌شود. CVS و آمنیوسنتز مسیر تثبت شده‌ای برای دسترسی به DNA جنینی فراهم می‌کنند، در حالی که روش‌های مبتنی بر cffDNA با هدف کاهش نیاز به نمونه‌گیری تهاجمی توسعه یافته‌اند (۷-۵).

از نظر فنی، آزمون‌های هدفمند می‌توانند برای واریانت شناخته شده کارآمد باشند، اما دامنه آن‌ها به طراحی آزمون محدود است. در مقابل، NGS یا LRS ممکن است بررسی گسترده‌تری فراهم کنند، ولی گستردگی داده به تنهایی تضمین‌کننده تشخیص صحیح نیست و باید کیفیت نمونه، پوشش، نوع تغییر ژنتیکی، تحلیل واریانت و اعتبارسنجی لحاظ شوند. در تالاسمی، به‌ویژه در تغییرات حذف‌محور یا نواحی ژنومی پیچیده، انتخاب روش باید متناسب با ساختار ژنتیکی بیماری باشد (۲۶-۲۴، ۱۰، ۸).

در روش‌های غیر تهاجمی، کاهش خطر ناشی از نمونه‌گیری تنها یکی از مزیت‌های بالقوه است. محدودیت سهم DNA جنینی، تفاوت آلل مادری و جنینی و نتایج نامشخص نشان می‌دهد که عملکرد هر آزمون باید بر اساس داده‌های همان روش و بیماری گزارش شود. شواهد امیدوارکننده در هموفیلی و بتا تالاسمی هنوز به معنای امکان استفاده روتین از همه روش‌ها در همه جمعیت‌ها نیست (۳۱-۲۷).

در SCD، آزمون‌های سریع کنار بستر می‌توانند برای

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-18]

غربالگری و شناسایی هموگلوبین‌ها مفید باشند، اما نقش آن‌ها با تشخیص ژنتیکی جنین متفاوت است. تمایز روشن میان غربالگری، تشخیص مولکولی در بارداری و PGT برای جلوگیری از برداشت نادرست از کاربرد آزمون‌ها ضروری است (۳۶، ۳۴، ۱۸، ۱۷). در نهایت، انتخاب روش باید با توجه به نوع بیماری، وضعیت ژنتیکی والدین، زمان بارداری، امکانات مرکز، هزینه و ترجیحات آگاهانه خانواده انجام شود.

نتیجه‌گیری

تشخیص پیش از تولد اختلالات ارثی خونی به انتخاب روشمند آزمون بر اساس واریانت ژنتیکی و شرایط بالینی نیاز دارد. غربالگری ناقلین و مشاوره ژنتیک مسیر ارزیابی خطر را آغاز می‌کنند؛ CVS و آمنیوسنتز نمونه لازم برای تشخیص مولکولی را فراهم می‌کنند و PCR هدفمند، تحلیل پیوستگی، NGS و روش‌های بررسی تغییرات ساختاری بر اساس نوع واریانت انتخاب می‌شوند. تشخیص غیر تهاجمی مبتنی بر cffDNA و PGT گزینه‌های مهمی برای شرایط منتخب‌اند، اما محدودیت‌ها و سطح شواهد آن‌ها باید صریح بیان شود. هیچ روش واحدی برای همه تغییرات ژنتیکی و همه خانواده‌ها مناسب نیست.

محدودیت‌ها:

این مقاله مرور روایتی است و جست‌وجو به مقالات انگلیسی زبان محدود بوده است. ارزیابی رسمی کیفیت مطالعات با خطر سوگیری انجام نشد و ممکن است برخی مطالعات مرتبط شناسایی نشده باشند. بسیاری از شواهد مربوط به روش‌های غیر تهاجمی از مطالعات کوچک یا کاربردهای منتخب به دست آمده‌اند؛ بنابراین، مقایسه مستقیم عملکرد روش‌ها و تعمیم نتایج به همه جمعیت‌ها باید با احتیاط انجام شود. پژوهش‌های آینده باید اعتبارسنجی چند مرکزی، هزینه اثربخشی و طیف واریانت‌های شایع در جمعیت‌های مختلف، از جمله ایران، را بررسی کنند.

عدم تعارض منافع

نویسندگان اذعان می دارند که هیچ گونه تضاد منافعی وجود ندارد.

نقش نویسندگان

حسن میراحمدی هوتکی: جست‌وجوی منابع ، بازبینی و ویرایش مقاله، مدیریت پروژه
مهراد دهدشتی: جست‌وجوی منابع، نگارش نسخه اولیه
زهرا خوش نگاه: گردآوری و سازمان‌دهی اطلاعات
آیدا نژادشاهبداغی: نگارش نسخه اولیه
خاطره حاتمی: نگارش نسخه اولیه
فاطمه ضیغی نژاد: نگارش نسخه اولیه
ریحانه حسینی: نگارش نسخه اولیه
دکتر هاجر مردانی ولندانی: بازبینی و ویرایش مقاله، نظارت علمی
دکتر علی افگار: بازبینی و ویرایش مقاله، نظارت علمی
دکتر طاهره حق‌پناه: بازبینی و ویرایش مقاله، نظارت علمی
دکتر روح‌اله میرزایی خلیل‌آبادی: ایده‌پردازی و طراحی کلی مقاله، بازبینی و ویرایش مقاله، نظارت علمی، مدیریت پروژه

References:

1- Chattoo S. Inherited blood disorders, genetic risk and global public health: framing 'birth defects' as preventable in India. Anthropol Med. 2018; 25(1):30-49.
2- Piel FB, Patil AP, Howes RE, Nyangiri OA, Gething PW, Dewi M, *et al*. Global epidemiology of sickle haemoglobin in neonates: a contemporary geostatistical model-based map and population estimates. Lancet. 2013; 381(9861):142-51.
3- Tuo Y, Li Y, Li Y, Ma J, Yang X, Wu S, *et al*. Global, regional, and national burden of thalassemia, 1990-2021: a systematic analysis for the global burden of disease study 2021. EClinicalMedicine. 2024; 72:102619.
4- Srivastava A, Santagostino E, Dougall A, Kitchen S, Sutherland M, Pipe SW, *et al*. WFH Guidelines for the Management of Hemophilia, 3rd edition. Haemophilia. 2020; 6:1-158.
5- Chiu RW, Lo YM. Clinical applications of maternal plasma fetal DNA analysis: translating the fruits of 15 years of research. Clin Chem Lab Med. 2013; 51(1):197-204.
6- Akolekar R, Beta J, Picciarelli G, Ogilvie C, D'Antonio F. Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis. Ultrasound Obstet Gynecol. 2015;45(1):16-26.
7- Salomon LJ, Sotiriadis A, Wulff CB, Odibo A, Akolekar R. Risk of miscarriage following amniocentesis or chorionic villus sampling: systematic review of literature and updated meta-analysis. Ultrasound Obstet Gynecol. 2019;54(4):442-51.
8- Mensah C, Sheth S. Optimal strategies for carrier screening and prenatal diagnosis of α- and β-thalassemia. Hematology Am Soc Hematol Educ

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-18]

Program. 2021; 2021(1): 607-13.
9- ACOG Practice Bulletin No. 78: hemoglobinopathies in pregnancy. Obstet Gynecol. 2007; 109(1): 229-37.
10- Shang X, Xu X. Update in the genetics of thalassemia: What clinicians need to know. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2017; 39: 3-15.
11- Samavat A, Modell B. Iranian national thalassaemia screening programme. BMJ. 2004; 329(7475):1134-7.
12- Lannoy N, Hermans C. Genetic mosaicism in haemophilia: A practical review to help evaluate the risk of transmitting the disease. Haemophilia. 2020; 26(3): 375-83.
13- Rees DC, Williams TN, Gladwin MT. Sickle-cell disease. Lancet. 2010; 376(9757): 2018-31.
14- Ljung RC. Prenatal diagnosis of haemophilia. Baillieres Clin Haematol. 1996; 9(2): 243-57.
15- Antoniadi T, Yapijakis C, Kaminopetros P, Makatsoris C, Velissariou V, Vassilopoulos D, et al. A simple and effective approach for detecting maternal cell contamination in molecular prenatal diagnosis. Prenat Diagn. 2002; 22(5): 425-9.
16- Antonarakis SE, Copeland KL, Carpenter RJ, Jr., Carta CA, Hoyer LW, Caskey CT, *et al*. Prenatal diagnosis of haemophilia A by factor VIII gene analysis. Lancet. 1985; 1(8443): 1407-9.
17- Arishi WA, Alhadrami HA, Zourob M. Techniques for the Detection of Sickle Cell Disease: A Review. Micromachines (Basel). 2021;12(5): 519.
18- Singh PJ, Shrivastava AC, Shrikhande AV. Prenatal diagnosis of sickle cell disease by the technique of PCR. Indian J Hematol Blood Transfus. 2015; 31(2): 233-41.
19- Lavery S. Preimplantation genetic diagnosis of haemophilia. Br J Haematol. 2009; 144(3): 303-7.
20- Laurie AD, Hill AM, Harraway JR, Fellowes AP, Phillipson GT, Benny PS, *et al*. Preimplantation genetic diagnosis for hemophilia A using indirect linkage analysis and direct genotyping approaches. J Thromb Haemost. 2010; 8(4):783-9.
21- Johnsen JM, Fletcher SN, Huston H, Roberge S, Martin BK, Kircher M, *et al*. Novel approach to genetic analysis and results in 3000 hemophilia patients enrolled in the My Life, Our Future initiative. Blood Adv. 2017; 1(13): 824-34.
22- Antonarakis SE, Rossiter JP, Young M, Horst J, de Moerloose P, Sommer SS, *et al*. Factor VIII gene inversions in severe hemophilia A: results of an international consortium study. Blood. 1995; 86(6): 2206-12.
23- Dericquebourg A, Fretigny M, Leuci A, Zawadzki C, Huguenin Y, Castet SM, *et al*. Whole F8 gene sequencing combined with splicing functional analyses led to a substantial increase of the molecular diagnosis yield for non-severe haemophilia A. Haemophilia. 2023; 29(5): 1320-33.
24- Liang Q, Gu W, Chen P, Li Y, Liu Y, Tian M, *et al*. A More Universal Approach to Comprehensive Analysis of Thalassemia Alleles (CATSA). J Mol Diagn. 2021; 23(9): 1195-204.
25- Liang Q, He J, Li Q, Zhou Y, Liu Y, Li Y, *et al*. Evaluating the Clinical Utility of a Long-Read Sequencing-Based Approach in Prenatal Diagnosis of Thalassemia. Clin Chem. 2023; 69(3): 239-50.
26- Toledo DM, Lafferty KA. Clinical Perspective on Use of Long-Read Sequencing in Prenatal Diagnosis of Thalassemia. Clin Chem. 2023; 69(3): 211-2.
27- Tsui NB, Kadir RA, Chan KC, Chi C, Mellars G, Tuddenham EG, *et al*. Noninvasive prenatal diagnosis of hemophilia by microfluidics digital PCR analysis of maternal plasma DNA. Blood. 2011;117(13): 3684-91.
28- Hudecova I, Jiang P, Davies J, Lo YMD, Kadir RA, Chiu RWK. Noninvasive detection of F8 int22h-related inversions and sequence variants in maternal plasma of hemophilia carriers. Blood. 2017; 130(3): 340-7.
29- Camunas-Soler J, Lee H, Hudgins L, Hintz SR, Blumenfeld YJ, El-Sayed YY, *et al*. Noninvasive Prenatal Diagnosis of Single-Gene Disorders by Use of Droplet Digital PCR. Clin Chem. 2018; 64(2): 336-45.
30- Lam KW, Jiang P, Liao GJ, Chan KC, Leung TY, Chiu RW, *et al*. Noninvasive prenatal diagnosis of monogenic diseases by targeted massively parallel sequencing of maternal plasma: application to β-thalassemia. Clin Chem. 2012; 58(10): 1467-75.
31- Suwannakhon N, Hemvuthiphan J, Pangeson T, Mahingsa K, Pingyod A, Bumrungpakdee W, *et al*. Non-invasive prenatal screening & diagnosis of β-thalassaemia in an affected foetus. Indian J Med Res. 2023; 157(5): 447-52.
32- Honda H, Miharu N, Ohashi Y, Samura O, Kinutani M, Hara T, *et al*. Fetal gender determination in early pregnancy through qualitative and quantitative analysis of fetal DNA in maternal serum. Hum Genet. 2002; 110(1): 75-9.
33- Ahmadi MH, Amirizadeh N, Rabiee M, Rahimi-Sharbaf F, Pourfathollah AA. Noninvasive Fetal Sex Determination by Real-Time PCR and TaqMan Probes. Rep Biochem Mol Biol. 2020; 9(3): 315-23.
34- Purohit P, Parida C, Martha TK, Bholo S, Naik A, Behera SK. Evaluation of a point-of-care rapid diagnostic test kit (SICKLECHECK) for screening of sickle cell diseases. PLoS One. 2024; 19(8): e0309045.
35- Quinn CT, Paniagua MC, DiNello RK, Panchal A, Geisberg M. A rapid, inexpensive and disposable point-of-care blood test for sickle cell disease using novel, highly specific monoclonal antibodies. Br J Haematol. 2016; 175(4):724-32.
36- Phylipsen M, Yamsri S, Treffers EE, Jansen DT, Kanhai WA, Boon EM, *et al*. Non-invasive prenatal diagnosis of beta-thalassemia and sickle-cell disease using pyrophosphorolysis-activated polymerization and melting curve analysis. Prenat Diagn. 2012; 32(6): 578-87.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-18]