

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Vervoort AJMW, Uittenbogaard LB, Hehenkamp WJK, Brölmann H a. M, Mol BWJ, Huirne J a. F.** Why do niches develop in Caesarean uterine scars? Hypotheses on the aetiology of niche development. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2015; 30(12):2695-2702. doi:10.1093/humrep/dev240
2. **Kremer TG, Ghiorzi IB, Dibi RP.** Isthmocele: an overview of diagnosis and treatment. *Rev Assoc Medica Bras* 1992. 2019;65(5):714-721. doi:10.1590/1806-9282.65.5.714
3. **Park IY, Kim MR, Lee HN, Gen Y, Kim MJ.** Risk factors for Korean women to develop an isthmocele after a cesarean section. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2018;18(1):162. doi:10.1186/s12884-018-1821-2
4. **B MV, C R.** Cesarean scar defect and its association with clinical symptoms, uterine position and the number of cesarean sections. *Int J Reprod Contracept Obstet Gynecol.* 2020;9(10):4091-4096. doi:10.18203/2320-1770.ijrcog20204293
5. **Wang CB, Chiu WWC, Lee CY, Sun YL, Lin YH, Tseng CJ.** Cesarean scar defect: correlation between Cesarean section number, defect size, clinical symptoms and uterine position. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009;34(1):85-89. doi:10.1002/uog.6405
6. **Hayakawa H, Itakura A, Mitsui T, et al.** Methods for myometrium closure and other factors impacting effects on cesarean section scars of the uterine segment detected by the ultrasonography. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2006;85(4):429-434. doi:10.1080/00016340500430436
7. **Bij de Vaate AJM, Brölmann H a. M, van der Voet LF, van der Slikke JW, Veersema S, Huirne J a. F.** Ultrasound evaluation of the Cesarean scar: relation between a niche and postmenstrual spotting. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol.* 2011;37(1):93-99. doi:10.1002/uog.8864
8. **Roberge S, Chaillet N, Boutin A, et al.** Single-versus double-layer closure of the hysterotomy incision during cesarean delivery and risk of uterine rupture. *Int J Gynaecol Obstet Off Organ Int Fed Gynaecol Obstet.* 2011;115(1):5-10. doi:10.1016/j.ijgo.2011.04.013

## THIẾT LẬP VÀ ĐÁNH GIÁ QUI TRÌNH SÀNG LỌC TRƯỚC SINH KHÔNG XÂM LẤN CHO CÁC BỆNH ĐƠN GEN TRỘI PHỔ BIẾN

Đoàn Phước Lộc<sup>1</sup>, Trần Vũ Uyên<sup>1</sup>, Nguyễn Cảnh Chương<sup>2</sup>,  
 Dương Hồng Chương<sup>2</sup>, Lương Thị Lan Anh<sup>3</sup>, Đoàn Thị Kim Phượng<sup>3</sup>,  
 Đào Thị Trang<sup>3</sup>, Hà Thị Minh Thi<sup>4</sup>, Trần Nhật Thăng<sup>5</sup>, Nguyễn Vạn Thông<sup>6</sup>,  
 Trịnh Nhật Thu Hương<sup>7</sup>, Lê Hồng Thịnh<sup>8</sup>, Đỗ Thị Thanh Thủy<sup>1</sup>, Trương Đình Kiệt<sup>1</sup>,  
 Nguyễn Hoài Nghĩa<sup>9</sup>, Phan Minh Duy<sup>1</sup>, Giang Hoa<sup>1</sup>, Tăng Hùng Sang<sup>1</sup>

## TÓM TẮT

**Đặt vấn đề:** Xét nghiệm sàng lọc trước sinh không xâm lấn NIPT (Non-Invasive Prenatal Testing - NIPT) đang ngày càng được ứng dụng rộng rãi trên thế giới. Gần đây, nhiều nghiên cứu cho thấy NIPT sử dụng kỹ thuật giải trình gen tự thể hệ mới (Next-generation sequencing – NGS) có khả năng phát hiện một phổ rộng các bệnh đơn gen dạng di truyền trội. Việc cải tiến liên tục phương pháp NGS trong tầm soát bất thường di truyền trước sinh cho thai phụ sẽ làm

giảm đáng kể gánh nặng bệnh tật và nâng cao chất lượng dân số Việt Nam. Trong nghiên cứu này, chúng tôi xây dựng và đánh giá độ chính xác của qui trình xét nghiệm trước sinh không xâm lấn bằng phương pháp giải trình tự độ sâu lớn để sàng lọc một số bệnh đơn gen trội phổ biến và nghiêm trọng cho thai phụ, từ đó có thể đánh giá khả năng sàng lọc toàn diện cho thai so với NIPT truyền thống. **Mục tiêu:** Thiết lập và đánh giá qui trình trước sinh không xâm lấn cho các bệnh di truyền trội đơn gen thông qua việc xác định độ nhạy và độ đặc hiệu kỹ thuật của xét nghiệm. **Phương pháp:** 30 mẫu máu ngoại vi của các thai phụ mang thai đơn trên 9 tuần thai kèm mẫu máu cha được thu nhận. DNA ngoại bào được tách chiết từ mẫu huyết tương, sau đó tiến hành tạo thư viện và lai-bắt giữ 30 gen mục tiêu và giải trình tự bằng hệ thống giải trình tự thể hệ mới Nextseq 2000 (Illumina, Hoa Kỳ). Các biến thể phát hiện trên DNA ngoại bào được so sánh với các biến thể phát hiện trên DNA nội bào của cha và mẹ (phân tích trios) để tính toán độ nhạy và độ đặc hiệu kỹ thuật của qui trình. **Kết quả:** Nghiên cứu phát hiện 29 biến thể dương tính thật và 8 biến thể dương tính giả trong tổng số 30 mẫu. Các biến thể dương tính giả xảy ra khi cha và mẹ đều có nucleotit chuẩn nhưng DNA ngoại bào cho thấy biến thể khác. Ngược lại, có hơn 3 triệu biến thể âm tính thật (cha mẹ đều đồng hợp tử nucleotit chuẩn) trong

<sup>1</sup>Viện Di truyền Y học,<sup>2</sup>Bệnh Viện Phụ Sản Hà Nội<sup>3</sup>Đại học Y Hà Nội,<sup>4</sup>Đại học Y Huế<sup>5</sup>Bệnh Viện Đại Học Y Dược<sup>6</sup>Bệnh Viện Hùng Vương<sup>7</sup>Bệnh Viện Từ Dũ<sup>8</sup>Bệnh Viện Phụ Sản Cần Thơ<sup>9</sup>Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

Chịu trách nhiệm chính: Tăng Hùng Sang

Email: sangtang@genesolutions.vn

Ngày nhận bài: 14.2.2022

Ngày phản biện khoa học: 31.3.2022

Ngày duyệt bài: 6.4.2022

30 gen mục tiêu đã được phát hiện chính xác. Có một biến thể âm tính giả được xác định khi tìm thấy trên mẫu DNA bộ gen của cha nhưng không phát hiện trên mẫu DNA ngoại bào tương ứng. Sử dụng thông số trên, nghiên cứu xác định độ nhạy kỹ thuật là 96.7% và độ đặc hiệu kỹ thuật là >99%. **Kết luận:** Nghiên cứu đã thiết lập được quy trình sàng lọc trước sinh không xâm lấn bằng kỹ thuật giải trình tự thế hệ mới cho nhiều bệnh đơn gen với độ chính xác cao. Đây là tiền đề quan trọng tiến tới khả năng mở rộng phạm vi sàng lọc của xét nghiệm trước sinh không xâm lấn nhằm phát hiện các bệnh đơn gen trội phổ biến.

**Từ khóa:** NIPT, kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới (NGS), bệnh đơn gen trội, đột biến mới, cell-free DNA.

## SUMMARY

### ESTABLISHMENT AND ASSESSMENT OF A NON-INVASIVE PRENATAL TESTING PROTOCOL FOR MULTIPLE DOMINANT MONOGENIC DISORDERS

**Background:** Non-Invasive Prenatal Testing (NIPT) for common fetal chromosomal abnormalities is increasingly being used worldwide. Many recent studies have shown that NIPT using next-generation sequencing (NGS) is able to detect a wide spectrum of dominant Mendelian diseases. The continuous improvement of the NGS method in prenatal screening will significantly reduce the burden of congenital birth defects and improve the quality of the Vietnamese population. In this study, we develop a non-invasive prenatal procedure by NGS method to screen for common and serious dominant monogenic diseases, providing a more comprehensive screening than traditional NIPT. **Objective:** Establish and validate a non-invasive prenatal testing protocol for early detection of some common dominant monogenic diseases by determining the sensitivity and specificity of the test. **Method:** A total of 30 blood samples from singleton pregnant women over 9 weeks of gestation, together with paternal blood samples were collected. Cell-free DNA were extracted from plasma samples, barcoded, enriched and then analyzed for 30 targeted genes by the Nextseq 2000 next-generation sequencing system. (Illumina, USA). The variant calls from the cell free DNA were compared with variants detected on paternal and maternal genomic DNA (trios analysis) to calculate the analytical sensitivity and specificity of the test. **Results:** We identified 29 true positive variants and 8 false positive variants in 30 samples. In contrast, more than 3 million variants within the 30 targeted genes had been correctly determined as true negative (both parents were homozygous of reference alleles). One false negative variant was observed on paternal genomic DNA but not on the corresponding cfDNA sample. With these numbers, we therefore reported that the analytical sensitivity of our test is 96.7% and analytical specificity is >99%. **Conclusion:** We established a non-invasive prenatal testing protocol to screen for multiple single gene disorders with high accuracy. This is an important step towards expanding the scope of current noninvasive prenatal testing to detect a wide spectrum of dominant monogenic diseases.

**Keywords:** NIPT, Next-Generation Sequencing (NGS), dominant monogenic diseases, de novo mutations, cell-free DNA

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay xét nghiệm trước sinh không xâm lấn (NIPT) chủ yếu phát hiện các bất thường số lượng và cấu trúc nhiễm sắc thể (NST). Các bệnh di truyền lặn cũng được phát hiện hiệu quả thông qua tầm soát người lành mang gen bệnh thể ẩn (carrier) [1-2]. Bên cạnh đó, có đến 60% các bệnh đơn gen nặng sau sinh là do bệnh di truyền trội với phần lớn nguyên nhân là do các đột biến mới (de novo). Tuy nhiên, việc sàng lọc trước sinh nhóm bệnh này vẫn chưa được thực hiện mặc dù tỷ lệ lưu hành khá cao. Thống kê của Brandt và cộng sự (2019) cho thấy tác động của độ tuổi của cha (được xác định là trên 40 tuổi) từ lâu đã được công nhận là một yếu tố nguy cơ đối với nhóm các dị tật bẩm sinh do đột biến mới xuất hiện trên NST thường [3]. Cụ thể, các dị tật bẩm sinh liên quan đến cha cao tuổi là do đột biến ở các gen FGFR2, FGFR3 và RET. Các cặp vợ chồng có chồng cao tuổi nên được tư vấn di truyền trước khi mang thai như gia tăng nguy cơ thai nhi mắc dị tật bẩm sinh do các đột biến gen trội mới. Một số bệnh đơn gen có tỷ lệ mắc tương đối cao là thường bị nghi ngờ khi thai có bất thường về tim, xương, hoặc bất thường siêu âm cấu trúc khác. Ví dụ, hội chứng Noonan là một nhóm các bệnh trội trên NST thường có thể có các đặc điểm siêu âm trước khi sinh giống với trisomy 21, 18 và 13, chẳng hạn như tăng độ mờ da gáy tam cá nguyệt đầu tiên [4,5]. Rối loạn xương sụn liên quan đến gen FGFR3 là một nhóm bệnh thường nghi ngờ khi có ngắn xương đùi và xương cánh tay trên siêu âm vào tam cá nguyệt thứ hai [6]. Đối với những thai kỳ có siêu âm bất thường, một quy trình chẩn đoán xâm lấn kết hợp với xét nghiệm di truyền phân tử thường cần thiết để làm rõ nguyên nhân và từ đó tiên lượng cho thai kỳ. Tuy nhiên, khi chẩn đoán cụ thể không được chỉ định và chỉ có 'soft markers' trên siêu âm (ví dụ: tăng xương độ mờ da gáy hoặc xương dài ngắn), thai phụ thường mong muốn được kiểm tra bằng xét nghiệm không xâm lấn do độ an toàn cao hơn so với tiến hành thủ thuật xâm lấn [7]. Kỹ thuật giải trình tự thế hệ mới với độ chính xác cao đã và đang được ứng dụng rộng rãi trong việc tầm soát và phát hiện các biến thể di truyền có ý nghĩa lâm sàng. Chitty và cộng sự (2015) đã cho thấy kỹ thuật NIPT bằng NGS cho phép tiếp cận an toàn hơn, chính xác hơn và toàn diện hơn trong sàng lọc các rối loạn xương sụn nghiêm trọng [8]. Gần

đây hơn, nghiên cứu mang tính đột phá của Zhang và cộng sự (2020) đã chứng minh xét nghiệm trước sinh không xâm lấn có thể cung cấp thông tin di truyền có giá trị để phát hiện một phổ rộng các bệnh đơn gen trội, bổ sung cho việc sàng lọc hiện tại cho các thể dị bội hoặc sàng lọc người mang gen bệnh di truyền lặn [7].

Tại Việt Nam, đến nay chưa có nghiên cứu nào sử dụng giải trình tự thế hệ mới để sàng lọc các bệnh đơn gen trội do đột biến mới cho thai phụ. Trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành thiết kế một phương pháp sàng lọc trước sinh không xâm lấn mới để phát hiện các biến thể gây bệnh mới trong 30 gen có độ thâm (penetrance) cao (hầu hết 96-100%) liên quan đến rối loạn đơn gen trội phổ biến và nghiêm trọng với tần suất mắc cộng dồn là 1/600 (Bảng 1).

Mục tiêu nghiên cứu: *Xác định độ nhạy và độ đặc hiệu kỹ thuật (analytical sensitivity and specificity) của phương pháp giải trình tự gen thế hệ mới trong việc phát hiện 25 bệnh di truyền trội phổ biến dựa trên DNA ngoại bào của thai nhi (cell-free fetal DNA) trong máu thai phụ.*

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

**Thiết kế nghiên cứu:** thiết lập và đánh giá qui trình.

**Đối tượng nghiên cứu:** Mẫu máu ngoại vi của 30 thai phụ đơn thai có kết quả sàng lọc NIPT bình thường và không có bất thường siêu âm tại Viện Di truyền Y học trong thời gian từ tháng 9/2021 đến tháng 01/2022. Mẫu máu của chồng thai phụ được thu nhận cùng thời điểm thu mẫu máu ngoại vi của thai phụ.

**Phương pháp nghiên cứu:** Để xác định độ chính xác của qui trình, nghiên cứu thực hiện phân tích 30 mẫu theo phương pháp trios gồm 30 cặp mẫu máu của thai phụ mang thai đơn với tuần thai từ 9 tuần trở lên và mẫu máu của người cha để thu được ba loại DNA: DNA ngoại bào của nhau thai, DNA bộ gen của cha và mẹ. Các mẫu đều được giải trình tự và dữ liệu được phân tích tổng hợp để đưa ra kết quả cuối cùng.

**Tách chiết DNA từ huyết tương và mẫu máu.** Đối với huyết tương ly tách từ máu ngoại vi của thai phụ: DNA ngoại bào (cell-free DNA) được thu nhận bằng phương pháp hạt từ với bộ kit MagMax cell-free DNA kit (Thermo Scientific, Đức) theo hướng dẫn của bộ kit. Đối với máu thai phụ và chồng, DNA bộ gen (gDNA) được tách chiết từ mẫu máu bằng bộ kit Magjet Whole blood DNA (Thermo Scientific, Đức).

**Xác định đột biến trong mẫu DNA ngoại bào từ mẫu huyết tương.** Tối thiểu 2ng DNA

ngoại bào (cfDNA) được sử dụng để tạo thư viện bằng bộ kit NEBNext Ultra II (New England Biolab, Hoa Kỳ) bao gồm các bước: chỉnh sửa đầu mút, gắn adaptor và khuếch đại bằng phản ứng PCR (Polymerase Chain Reaction) với số lượng chu kỳ tối ưu theo hướng dẫn của bộ kit. Thư viện DNA được tiến hành lai-bắt giữ với các mồi dò đặc hiệu cho 30 gen mục tiêu. Bộ kit xGen Lockdown reagent (IDT, Hoa Kỳ) được sử dụng để thực hiện tinh sạch sản phẩm lai-bắt giữ của các gen mục tiêu này. Thư viện lai-bắt giữ được xác định nồng độ bằng bộ kit định lượng Quantus (Promega, Hoa Kỳ) và tiến hành giải trình tự trên hệ thống Nextseq 2000 (Illumina, Hoa Kỳ) tại độ sâu trong ngưỡng ~10.000X.

**Xác định đột biến trong mẫu DNA bộ gen của cha mẹ.** Tối thiểu 200ng DNA bộ gen (genomic DNA) được sử dụng để tạo thư viện bằng bộ kit NEBNext Ultra II FS (New England Biolab, Hoa Kỳ) bao gồm các bước: phân mảnh DNA, chỉnh sửa đầu mút, gắn adaptor và khuếch đại bằng phản ứng PCR (Polymerase Chain Reaction) với số lượng chu kỳ tối ưu theo hướng dẫn của bộ kit. Thư viện DNA được tiến hành lai-bắt giữ với các mồi dò đặc hiệu cho 30 gen mục tiêu bằng bộ kit xGen Lockdown reagent (IDT, Hoa Kỳ). Thư viện lai-bắt giữ được xác định nồng độ bằng bộ kit định lượng Quantus (Promega, Hoa Kỳ) và tiến hành giải trình tự trên hệ thống Nextseq 2000 (Illumina, Hoa Kỳ) tại độ sâu trong ngưỡng 500X.

**Phân tích kết quả giải trình tự.** Kết quả giải trình tự thế hệ mới được sao lưu và gửi lên máy chủ để phân tích kết quả. Trình tự DNA được sắp xếp lên bộ gen người chuẩn (GRCh38) để xác định vị trí của trình tự này trên bộ gen người. Vị trí của mỗi trình tự trong cặp trình tự cho phép xác định biến đổi xảy ra trên vùng gen mục tiêu. Phần mềm phân tích sẽ xác định các biến đổi di truyền xảy ra trong 30 gen mục tiêu (dựa trên phương pháp phân tích tối ưu hoá bởi Viện nghiên cứu Broad thuộc Đại học Harvard - Hoa Kỳ). Đột biến của mẫu DNA ngoại bào (cfDNA) trong huyết tương được xác định là những biến thể có tần suất VAF (variant allele frequency) lớn hơn 2% và có độ phủ tối thiểu 200X. Tần suất 2% tương ứng với thể dị hợp của mẫu DNA ngoại bào có tỉ lệ DNA nhau thai 4% (fetal fraction). Đột biến dòng mầm (germline mutation) của mẫu DNA bộ gen được xác định trong vùng mã hoá của 30 gen mục tiêu.

## III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Để sàng lọc bệnh trội đơn gen, chúng tôi đã

thiết kế qui trình để khảo sát 30 gen liên quan đến 25 bệnh/hội chứng di truyền trội phổ biến nhất với tần suất cộng gộp là 1/600 (lớn hơn tần suất mắc hội chứng Down là 1/700 - theo thống kê của Trung tâm Kiểm soát Dịch bệnh của Hoa Kỳ). Nhóm bệnh khảo sát bao gồm các bệnh thần kinh, tim mạch, xương sụn, và hệ thống nghiêm trọng, phần lớn xảy ra do các đột biến

mới mà không có tiền căn gia đình gợi ý nên dễ bị bỏ sót. Tuy nhiên các bệnh này cần được phát hiện sớm để quản lý trước sinh, chuyển dạ và chăm sóc sơ sinh tích cực. Các gen khảo sát có độ thâm tuyệt đối (hầu hết là 100%) do vậy nếu thai mang đột biến mới thì khả năng biểu hiện bệnh sẽ rất cao (Bảng 1).

**Bảng 1. Thông tin của 30 gen liên quan đến 25 bệnh đơn gen trội được khảo sát trong nghiên cứu.**

STT	Gen	Hội chứng/bệnh	Độ thâm của gen*	Khả năng phát hiện của NGS**	Tần suất bệnh***
1	BRAF	Noonan syndrome	>99%	99%	4-10:10.000
2	MAP2K1	Cardiofaciocutaneous syndrome 1		99%	
3	MAP2K2	Cardiofaciocutaneous syndrome 3		99%	
4	HRAS	Costello syndrome/ Noonan syndrome		95%	
5	PTPN11	Noonan syndrome 1/ LEOPARD syndrome /cancers		99%	
6	SOS1	Noonan syndrome 4		99%	
7	RAF1	Noonan syndrome 5/ LEOPARD syndrome 2		99%	
8	NRAS	Noonan syndrome 6/ cancers		99%	
9	RIT1	Noonan syndrome 8		99%	
10	SOS2	Noonan syndrome 9		99%	
11	KRAS	Noonan syndrome / cancers		99%	
12	SHOC2	Noonan syndrome-like with loose anagen hair		99%	
13	CBL	Noonan syndrome-like disorder with or without juvenile myelomonocytic leukemia		97%	
14	COL1A1	Ehlers-Danlos syndrome, classic, type VIIA Osteogenesis imperfecta, type I,II,III,IV	100%	95%	3-4:100.000
15	COL1A2	Ehlers-Danlos syndrome, type VII B Osteogenesis imperfecta, type I,II,III,IV	100%	95%	
16	FGFR3	Achondroplasia CATSHL syndrome Crouzon syndrome Hypochondroplasia Muenke syndrome Thanatophoric dysplasia type I, II	100%	99%	1-2:10.000
17	FGFR2	Antley-Bixler syndrome Apert syndrome Crouzon syndrome Jackson_Weiss syndrome Pfeiffer syndrome type 1/2/3	100%	99%	4:100.000
18	JAG1	Alagille syndrome	96%	89%	1:70.000
19	CHD7	CHARGE syndrome	100%	94%	10-12:100.000
20	NIPBL	Cornelia de Lange syndrome 1	100%	97%	1-10:100.000
21	SMC1A	Cornelia de Lange syndrome 2	100%	99%	
22	SMC3	Cornelia de Lange syndrome 3	100%	99%	

23	RAD21	Cornelia de Lange syndrome 4	100%	44%	
24	HDAC8	Cornelia de Lange syndrome 5	100%	77%	
25	CDKL5	Epileptic encephalopathy	Không hoàn toàn	87%	Không xác định
26	SYNGAP1	Intellectual disability	89%	89%	
27	MECP2	Rett syndrome	100%	80%	12:100.000
28	NSD1	Sotos syndrome 1	100%	48%	7-20:100.000
29	TSC2	Tuberous sclerosis 1	100%	95%	1-2:10.000
30	TSC1	Tuberous sclerosis 2	100%	94%	

(\*) và (\*\*\*) Tần suất bệnh và độ thâm của gen được trích dẫn từ GeneReviews (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1116/>); (\*\*\*) Khả năng phát hiện của NGS dựa trên thống kê y văn hiện tại.

Độ chính xác bao gồm độ nhạy và độ đặc hiệu của qui trình được trình bày dựa trên việc phát hiện những biến thể trong DNA ngoại bào so với DNA bộ gen của cha mẹ. Tuổi thai tại thời điểm lấy mẫu dao động từ 15.6 tuần đến 25.6 tuần. Nồng độ DNA ngoại bào của nhau thai (fetal fraction) dao động từ 4,8 đến 24%.

Trong nghiên cứu này, các biến thể dương tính thật được xác định là những biến thể của nhau thai được phát hiện di truyền từ cha. Nghiên cứu phát hiện 29 biến thể dương tính thật. Các biến thể dương tính giả xảy ra khi cả cha và mẹ đều có nucleotit chuẩn nhưng DNA ngoại bào cho thấy biến thể khác. Nghiên cứu phát hiện 8 biến thể dương tính giả trong tổng số 30 mẫu. Ngược lại, biến thể âm tính thật được định nghĩa là những vị trí nucleotit chuẩn được xác định đồng thời trên mẫu DNA ngoại bào và mẫu DNA bộ gen của cha mẹ. Đối với các biến thể âm tính thật (cha mẹ đều đồng hợp tử nucleotit chuẩn), có hơn 3 triệu vị trí trong 30 gen mục tiêu đã được phát hiện chính xác trong tổng số 30 mẫu DNA ngoại bào. Biến thể âm tính giả được định nghĩa là những biến thể di truyền từ cha hoặc những biến thể mới nhưng không được phát hiện trong mẫu DNA ngoại bào tương ứng. Có một biến thể âm tính giả được xác định khi tìm thấy trên mẫu DNA bộ gen của cha nhưng không phát hiện trên mẫu DNA ngoại bào tương ứng. Sử dụng thông số trên, nghiên cứu xác định độ nhạy kỹ thuật là 96.7% và độ đặc hiệu kỹ thuật là >99% (Bảng 2). Ước tính giá trị tiên lượng dương là 73.4% và giá trị tiên lượng âm là >99%.

**Bảng 2.** Độ nhạy và độ đặc hiệu trong mẫu huyết tương (30 mẫu trios). TP, dương tính thật. TN, âm tính thật. FP, dương tính giả. FN, âm tính giả.

Loại số liệu	Công thức tính	Giá trị
--------------	----------------	---------

Số biến thể dương tính thật	TP	29
Số biến thể âm tính thật	TN	3,149,440
Số biến thể dương tính giả	FP	8
Số biến thể âm tính giả	FN	1
Độ nhạy	TP/(TP + FN)	96.7%
Độ đặc hiệu	TN/(TN + FP)	>99%
Giá trị tiên lượng dương	TP/(TP + FP)	73.4%
Giá trị tiên lượng âm	TN/(TN + FN)	>99%

#### IV. BÀN LUẬN

Mặc dù sàng lọc trước sinh đang trở nên phổ biến đối với các bất thường nhiễm sắc thể, việc sử dụng sàng lọc trước sinh cho các bệnh di truyền trội đơn gen vẫn chưa được phổ biến do còn nhiều thách thức về mặt kỹ thuật. Trong qui trình mà chúng tôi đã xây dựng, mẫu DNA ngoại bào được giải trình tự với độ phủ tính toán là ~8.000x. Tuy nhiên, độ phủ này bao gồm các phân tử khuếch đại từ PCR cũng như các sai sót xảy ra trong quá trình giải trình tự. Do đó, để đánh giá hiệu quả kỹ thuật của qui trình, chúng tôi sử dụng phân tích trios để xác định các vị trí trong 30 mẫu mà qui trình của chúng tôi đã xác định đúng (dương tính thật và âm tính thật), từ đó ước tính được độ nhạy của qui trình là 96.7% và độ đặc hiệu là >99%. Đây là kết quả khá tương đồng với một nghiên cứu trước đây, chúng tôi qui trình của chúng tôi đã đạt được hiệu quả mong đợi [10].

Chúng tôi gặp được 8 biến thể dương tính giả và 1 biến thể âm tính giả. Những biến thể dương tính giả này là những biến thể xuất hiện ở mẫu DNA ngoại bào nhưng không được tìm thấy ở cả cha lẫn mẹ. Tuy nhiên, cả 8 biến thể này đều không phải là biến thể gây bệnh theo phân loại của ClinVar. Do đó, trong 30 mẫu DNA ngoại bào từ thai phụ khoẻ mạnh, chúng tôi đã không tìm được bất kì đột biến gây bệnh nào. Trong tương lai khi áp dụng qui trình trên thực tế, những biến thể này (đặc biệt nếu là biến thể gây bệnh) cần

được kiểm tra lại bằng cách giải trình tự amplicon chuyên biệt cho từng biến thể để tránh những trường hợp dương tính giả gây lo lắng không cần thiết cho thai phụ. Biến thể âm tính giả xuất hiện sẽ làm bỏ sót những trường hợp thai bị bệnh trong thực tế. Do đó, thai phụ vẫn cần duy trì khám và siêu âm định kỳ và có thể lặp lại xét nghiệm nếu có nghi ngờ thông qua kết quả siêu âm để hạn chế tối đa trường hợp bỏ sót.

Một thách thức khác khi xây dựng qui trình cho bệnh di truyền trội đơn gen là sự khan hiếm của các mẫu dương tính thật (DNA ngoại bào của thai phụ mang thai bị đột biến gây bệnh trong 30 gen khảo sát). Do đó, ở nghiên cứu này, chúng tôi chỉ có thể đánh giá hiệu quả kỹ thuật của qui trình thông qua phân tích biến thể di truyền từ cha và mẹ. Để có được ước tính chính xác độ nhạy và độ đặc hiệu của xét nghiệm khi áp dụng trên lâm sàng, bước tiếp theo là thiết kế và thực hiện thử nghiệm lâm sàng trên số mẫu lớn. Tóm lại, kết quả của nghiên cứu này là tiền đề cho việc mở rộng phạm vi khảo sát của xét nghiệm NIPT để sàng lọc các dị tật bẩm sinh do bệnh đơn gen trội khi thai phụ có bất thường siêu âm, chồng tuổi cao, có tiền căn gia đình đã sinh con mắc các bệnh khảo sát, hoặc thai phụ muốn một xét nghiệm không xâm lấn khảo sát rộng.

## V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã thiết kế thành công qui trình ứng dụng kỹ thuật NGS trong sàng lọc trước sinh không xâm lấn cho các bệnh đơn gen. Tổng cộng

có 30 gen được khảo sát liên quan đến 25 hội chứng di truyền trội phát sinh phần lớn do các đột biến mới ở thai. Xét nghiệm này có thể phát hiện chính xác biến thể từ DNA ngoại bào của nhau thai từ huyết tương của mẹ với độ nhạy và độ đặc hiệu cao.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Rowley, Peter T., Starlene Loader, and Robert M. Kaplan. "Prenatal screening for cystic fibrosis carriers: an economic evaluation." *The American Journal of Human Genetics* 63.4 (1998): 1160-1174.
2. Nelson, William B., J. MICHAEL Swint, and C. Thomas Caskey. "An economic evaluation of a genetic screening program for Tay-Sachs disease." *American Journal of Human Genetics* 30.2 (1978): 160.
3. Brandt, Justin S., et al. "Advanced paternal age, infertility, and reproductive risks: a review of the literature." *Prenatal diagnosis* 39.2 (2019): 81-87.
4. Roberts, A. E., Allanson, J. E., Tartaglia, M. & Gelb, B. D. Noonan syndrome. *Lancet* 381, 333–342 (2013).
5. Nisbet, D. L., Griffin, D. R. & Chitty, L. S. Prenatal features of Noonan syndrome. *Prenat. Diagn.* 19, 642–647 (1999).
6. Krakow, D., Lachman, R. S. & Rimoin, D. L. Guidelines for the prenatal diagnosis of fetal skeletal dysplasias. *Genet. Med.* 11, 127–133 (2009).
7. Zhang, Jinglan, et al. "Non-invasive prenatal sequencing for multiple Mendelian monogenic disorders using circulating cell-free fetal DNA." *Nature medicine* 25.3 (2019): 439-447.
8. Chitty, L. S. et al. Non-invasive prenatal diagnosis of achondroplasia and thanatophoric dysplasia: next-generation sequencing allows for a safer, more accurate, and comprehensive approach. *Prenat. Diagn.* 35, 656–662 (2015).

## KẾT QUẢ SƠM PHẪU THUẬT LÓC ĐỘNG MẠCH CHỦ TYPE A CẤP TÍNH TẠI BỆNH VIỆN HỮU NGHỊ VIỆT ĐỨC - GIAI ĐOẠN 2018-2021

Phùng Duy Hồng Sơn\*, Nguyễn Hữu Phong\*, Nguyễn Hữu Ước\*

### TÓM TẮT

**Đặt vấn đề:** Phẫu thuật tim hở cấp cứu điều trị Lóc động mạch chủ type A cấp tính – một dạng bệnh lý tim mạch rất nặng, đã trở thành thường quy tại bệnh viện Hữu nghị Việt Đức, với một số báo cáo kết quả cho những năm trước 2016. Nghiên cứu này nhằm đánh giá kết quả sớm của phẫu thuật cho giai đoạn 2018-2021, với nhiều tiến bộ về kỹ thuật và trang thiết bị - vật tư. **Đôi tượng và phương pháp:**

Nghiên cứu mô tả hồi cứu với cỡ mẫu thuận tiện, gồm tất cả các bệnh nhân được phẫu thuật điều trị lóc ĐMC type A giai đoạn 2018 – 2021, tại Trung tâm Tim mạch và lồng ngực, bệnh viện Hữu nghị Việt Đức. **Kết quả:** Có 201 trường hợp, tuổi trung bình  $57 \pm 12$  tuổi, nam giới chiếm 76,7% (154 ca). Chèn ép tim cấp trước mổ biểu hiện ở 7,5% (14 ca). Bệnh nhân có kiểu hình Marfan chiếm 4% (8 ca). Phương pháp phẫu thuật: thay động mạch chủ lên đơn thuần 51,2% (103 ca), thay bán phần quai và toàn bộ quai lần lượt là 16,9% và 22,9%, trong đó phẫu thuật vòi voi cải tiến chiếm 10,9%. Thời gian điều trị hồi sức trung bình  $12,1 \pm 8,8$  ngày, tỷ lệ mở khí quản 15,8%. Tử vong sớm tại viện gặp ở 22 ca (10,9%) do nhiều nguyên nhân khác nhau. **Kết luận:** trong vài năm gần đây, chúng tôi đã áp dụng nhiều kỹ thuật mổ đa dạng và cập nhật để điều trị bệnh lóc động mạch chủ type A

\*Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức, Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Hữu Ước

Email: uocdhyhn101@yahoo.com.vn

Ngày nhận bài: 10.2.2022

Ngày phản biện khoa học: 29.3.2022

Ngày duyệt bài: 4.4.2022