

**V. KẾT LUẬN**

Tỷ lệ nhiễm vi-rút Dengue trong số bệnh nhân nghi ngờ khi đến khám tại bệnh viện Nguyễn Tri Phương năm 2022 cao. Trong đó, phát hiện được ba týp vi-rút Dengue bằng kỹ thuật RT-real-time PCR với tỷ lệ Dengue týp 2 chiếm ưu thế. Đây là týp vi-rút có tỷ lệ bệnh nặng cao nhất cũng như độ nhạy thấp nhất với các sinh phẩm xét nghiệm nhanh NS1 hiện nay.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. **Recker, M., et al.,** Immunological serotype interactions and their effect on the epidemiological pattern of dengue. *Proc Biol Sci*, 2009. 276(1667): p. 2541-8.
2. **Do, T.T.T., et al.,** Climatic-driven seasonality of emerging dengue fever in Hanoi, Vietnam. *BMC Public Health*, 2014. 14(1): p. 1078.
3. **Huy, B.V., et al.,** Epidemiological and Clinical Features of Dengue Infection in Adults in the

- 2017 Outbreak in Vietnam. *Biomed Res Int*, 2019. 2019: p. 3085827.
4. **Tantawichien, T.,** Dengue fever and dengue haemorrhagic fever in adolescents and adults. *Paediatr Int Child Health*, 2012. 32 Suppl 1(s1): p. 22-7.
5. **Nguyễn Đức Thuận, Đặng Thành Chung,** Nghiên cứu tỉ lệ type virus dengue ở bệnh nhân nhi trong một số đợt dịch tại khu vực miền nam Việt Nam. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 2021. 503(1): p. 61-64.
6. **Van Le, T., N.T.T. Van, N.H. Quan, and P.T. Duoc,** Phylogeny of Dengue virus type 2 isolated in the Central Highlands, Vietnam. *Revista de Biología Tropical*, 2017. 65(2): p. 819-826.
7. **Shan, X., et al.,** Evaluation of the diagnostic accuracy of nonstructural protein 1 Ag-based tests for dengue virus in Asian population: a meta-analysis. *BMC Infect Dis*, 2015. 15: p. 360.
8. **Senaratne, U.T.N., et al.,** Dengue virus co-infections with multiple serotypes do not result in a different clinical outcome compared to mono-infections. *Epidemiol Infect*, 2020. 148: p. e119.

## THIẾT LẬP VÀ ĐÁNH GIÁ QUI TRÌNH SÀNG LỌC TRƯỚC SINH KHÔNG XÂM LẤN CHO HỘI CHỨNG MẤT ĐOẠN 22Q11.2

Nguyễn Phạm Trường Vinh<sup>1</sup>, Phạm Thị Thuỳ Trang<sup>1</sup>, Nguyễn Vạn Thông<sup>2</sup>,  
Võ Tá Sơn<sup>3</sup>, Trần Nhật Thăng<sup>4</sup>, Nguyễn Cảnh Chương<sup>5</sup>, Tăng Xuân Hải<sup>6</sup>,  
Phạm Thái Hạ<sup>7</sup>, Nguyễn Thị Bích Vân<sup>8</sup>, Hà Thị Minh Thi<sup>9</sup>,  
Đỗ Thị Thanh Thủy<sup>1</sup>, Trương Đình Kiệt<sup>1</sup>, Tăng Hùng Sang<sup>1</sup>,  
Nguyễn Hoài Nghĩa<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Tường Vy<sup>1</sup>, Giang Hoa<sup>1</sup>, Phan Minh Duy<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 các bất thường vi mất đoạn gây ra mất đoạn 22q11.2 (hội chứng DiGeorge) ở thai. 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 vi mất đoạn gây ra hội chứng DiGeorge ở thai, 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 sàng lọc trước sinh không xâm lấn mất đoạn 22q11.2 gây ra hội chứng DiGeorge cho thai thông qua việc xác định độ nhạy và độ đặc hiệu kỹ thuật của xét nghiệm. **Phương pháp:** Chúng tôi thu nhận 134 mẫu máu ngoại vi của các thai phụ mang thai đơn trên 9 tuần tuổi thai, gồm 17 mẫu chứa vi mất đoạn thai nhi tại 22q11.2 và 117 mẫu âm tính. DNA ngoại bào được tách chiết từ mẫu huyết tương, sau đó tiến hành tạo thư viện, và giải trình tự bằng hệ thống giải trình tự thể hệ mới Nextseq 2000. Thông tin giải trình tự được tính toán và chuyển đổi thành tín hiệu gen bình thường và tín hiệu gen vi mất đoạn. Mô hình học máy được huấn luyện trên 10 mẫu dương tính và 10 mẫu âm tính, và đánh giá trên tập dữ liệu gồm 7 mẫu dương tính và 107 mẫu âm tính. **Kết quả:** Mô hình phát hiện toàn bộ 7 mẫu dương tính thật và 4 mẫu dương tính giả trong tổng số 114 mẫu được dự đoán. Trong khi đó, 103/107 mẫu âm tính thật đã được phát hiện chính xác. Sử dụng thông số trên, nghiên cứu xác

<sup>1</sup>Viện Di truyền Y học<sup>2</sup>Bệnh Viện Hùng Vương<sup>3</sup>Bệnh Viện Vinmec<sup>4</sup>Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh<sup>5</sup>Bệnh Viện Phụ Sản Hà Nội<sup>6</sup>Bệnh Viện Sản Nhi Nghệ An<sup>7</sup>Bệnh Viện Phụ Sản Nhi Phú Thọ<sup>8</sup>Bệnh Viện Phụ Sản Trung Ương<sup>9</sup>Đại học Y Huế

Chịu trách nhiệm chính: Phan Minh Duy

Email: duyphan@genesolutions.vn

Ngày nhận bài: 21.11.2023

Ngày phản biện khoa học: 21.12.2023

Ngày duyệt bài: 24.01.2024

định độ nhạy kỹ thuật là >99%, độ đặc hiệu kỹ thuật là 96,3%, giá trị tiên đoán dương là >63,6%, và giá trị tiên đoán âm là >99%. **Kết luận:** Nghiên cứu đã thiết lập được qui trình sàng lọc trước sinh không xâm lấn bằng kỹ thuật giải trình tự thế hệ mới cho vi mất đoạn tại 22q11.2 ở thai nhi 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 vi mất đoạn phổ biến cho thai nhi. **Từ khóa:** NIPT, kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới (NGS), hội chứng Di George, mất đoạn 22q11.2, cell-free DNA.

## SUMMARY

### ESTABLISHMENT AND ASSESSMENT OF A NON-INVASIVE PRENATAL TESTING PROTOCOL FOR 22q11.2 DELETION SYNDROME

**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 fetal diseases caused by microdeletion. 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 microdeletions causing Di George syndrome, providing a more comprehensive screening than traditional NIPT. **Objective:** Establish and validate a non-invasive prenatal testing protocol for early detection of Di George syndrome by determining the sensitivity and specificity of the test. **Method:** A total of 134 blood samples from singleton pregnant women over 9 weeks of gestation were collected, including 17 samples with fetal microdeletion at 22q11.2, and 117 negative samples. Cell-free DNA were extracted from plasma samples, barcoded, and then analyzed by the Nextseq 2000 system. The sequencing data were then transformed to normal gene signals and deletion signals. A machine learning model were trained using 10 positive and 10 negative samples, and validated on a test dataset of 7 positive and 107 negative samples. **Results:** In a total of 114 tested samples, our method detected all 7 true positive samples but also identified 4 false positive samples. Meanwhile, 103/107 samples had been determined as true negative. We therefore reported that the analytical sensitivity of our method is >99%, the analytical specificity is 96.3%, the positive predictive value is > 63.6%, and the negative predictive value is >99%. **Conclusion:** We established a non-invasive prenatal testing protocol to screen for fetal microdeletion, specifically at 22q11.2 causing DiGeorge syndrome. This is an important step towards expanding the scope of current noninvasive prenatal testing to detect a wide spectrum of fetal diseases caused by microdeletion. **Keywords:** NIPT, Next-Generation Sequencing (NGS), DiGeorge syndrome, 22q11.22 deletion syndrome, cell-free DNA

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sàng lọc trước sinh không xâm lấn (NIPT)

chủ yếu phát hiện các lệch bội nhiễm sắc thể phổ biến (T21, T13 và T18) ở thai nhi. Trong những năm gần đây, với sự phát triển của kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới, NIPT có khả năng mở rộng phạm vi sàng lọc các vùng gen mục tiêu, bao gồm sàng lọc các biến thể số lượng bản sao (copy number variants-CNVs) như vi mất đoạn nhiễm sắc thể. Phổ biến nhất trong số này là hội chứng mất đoạn 22q11.2 (22q11.2DS), còn được gọi là hội chứng DiGeorge<sup>1-2</sup>. Hội chứng này được đặc trưng bởi các đặc điểm khác nhau bao gồm dị tật tim bẩm sinh và chậm phát triển ở hầu hết bệnh nhân, hormone ếch hoặc thiếu năng vòm hầu, hạ canxi máu, suy giảm miễn dịch, tự kỷ và rối loạn tâm thần. Riêng lẻ, bất kỳ CNV nào cũng đều hiếm; tuy nhiên, hội chứng mất đoạn 22q11.2 (22q11.2DS), là CNV gây bệnh phổ biến nhất được xác định trước sinh, ước tính có tỷ lệ lưu hành từ 1/990 đến 1 /2148 thai kỳ và khoảng 1/3000 đến 6000 trẻ sinh ra sống, và do đó là một trong những nguyên nhân phổ biến nhất gây ra tình trạng chậm phát triển và dị tật tim bẩm sinh<sup>1-3</sup>. Hiệp hội Di truyền Y khoa Hoa Kỳ (American College of Medical Genetics and Genomics ACMG) khuyến nghị NIPT sàng lọc hội chứng mất đoạn 22q11.2 cho tất cả thai phụ (khuyến nghị có điều kiện, dựa trên mức độ chắc chắn vừa phải của bằng chứng)<sup>1</sup>. Ngoài việc cung cấp cho cha mẹ những thông tin quan trọng về quá trình mang thai của họ, chẩn đoán trước sinh về 22q11.2DS còn có khả năng cải thiện kết cục lâm sàng ngắn hạn và dài hạn cho những trẻ mắc bệnh. Thai phụ có thể sinh trẻ tại một trung tâm có khả năng chăm sóc và hỗ trợ trẻ sơ sinh có dị tật tim bẩm sinh, điều trị kịp thời tình trạng hạ canxi máu và suy giảm miễn dịch, đã được chứng minh là cải thiện tiên lượng cho trẻ<sup>1-3</sup>.

Tại Việt Nam, hội chứng DiGeorge là vi mất đoạn phổ biến nhất (1/185 thai kỳ nguy cơ cao) trong nhóm bất thường vi mất/lặp đoạn theo kết quả của nghiên cứu hồi cứu cho đoàn hệ 5.008 thai kỳ có bất thường hình thái trên siêu âm được chẩn đoán trước sinh bằng kỹ thuật CNVseq<sup>4</sup>. Tuy vậy, cho đến nay chưa có nghiên cứu nào sử dụng giải trình tự thế hệ mới để sàng lọc các bất thường số lượng bản sao phổ biến 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 hội chứng mất đoạn 22q11.2 giúp tăng phạm vi khảo sát, tạo cơ hội cho sàng lọc toàn diện và hiệu quả hơn các bất thường phổ biến và

nghiêm trọng nhất cho thai phụ Việt Nam.

**Mục tiêu nghiên cứu:** Xác định độ nhạy và độ đặc hiệu kỹ thuật (analytical sensitivity and specificity) của phương pháp phát hiện đột biến vi mất đoạn 22q11.2 ở thai nhi, dựa trên việc giải trình tự gen thể hệ mới DNA ngoại bào của thai nhi (cell-free fetal DNA) trong máu thai phụ và mô hình học máy.

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

**Thiết kế nghiên cứu:** thiết lập và đánh giá qui trình sàng lọc trước sinh không xâm lấn hội chứng mất đoạn 22q11.2

**Đối tượng nghiên cứu:** Mẫu máu ngoại vi của 134 thai phụ đơn thai có kết quả sàng lọc NIPT bình thường tại Viện Di truyền Y học trong thời gian từ tháng 01/2023 đến tháng 07/2023. Trong đó, 17 thai phụ đã có kết quả chẩn đoán trước sinh thai kỳ có bất thường vi mất đoạn 22q11.2 (hội chứng DiGeorge) bằng các xét nghiệm chẩn đoán sinh học phân tử ((Fluorescence In Situ Hybridisation - FISH, Prenatal BACs-on Beads – BoBs) hoặc áp dụng kỹ thuật giải trình tự gen thể hệ mới (Copy Number Variant sequencing - CNVseq).

**Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu thực hiện giải trình tự thể hệ mới mẫu máu của thai phụ để thu được DNA ngoại bào của nhau thai. Sau đó, các mẫu được giải trình tự. Dữ liệu từ quy trình giải trình tự được phân tích để xây dựng mô hình học máy và dự đoán đột biến vi mất đoạn. Trong số 134 mẫu nghiên cứu, 10 mẫu dương tính (có chứa vi mất đoạn 22q11.2 ở thai nhi) và 10 mẫu âm tính (không chứa vi mất đoạn 22q11.2 ở thai nhi) được dùng để huấn luyện mô hình học máy. 7 mẫu dương tính và 107 mẫu âm tính còn lại được dùng để kiểm tra tính chính xác của mô hình.

**Tách chiết DNA từ huyết tương:** Huyết tương được ly trích từ máu ngoại vi của thai phụ từ 9 tuần tuổi thai: DNA ngoại bào (cfDNA) được thu nhận bằng phương pháp hạt từ theo hướng dẫn của bộ kit Magmax™ Cell-free DNA Isolation Kit (Thermo Scientific, Đức).

**Tạo thư viện cho các DNA ngoại bào từ mẫu huyết tương:** Tối thiểu 0.36ng phân đoạn 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. Sau đó, các đoạn DNA ngoại bào được chuẩn bị thư viện giải trình tự bằng cách gắn "mã vạch" (barcode) giúp phân biệt nguồn gốc mẫu và khuếch đại bằng phản ứng PCR (Polymerase Chain Reaction). Thư viện

DNA được xác định nồng độ bằng bộ kit định lượng QuantiFluor® dsDNA System (Hoa Kỳ) và tiến hành giải trình tự trên hệ thống Nextseq 2000 (Illumina, Hoa Kỳ) để thu được từ 16 – 20 triệu cặp reads mỗi mẫu.

**Phân tích kết quả giải trình tự để trích xuất thông tin đặc trưng cho mô hình học máy:** Sau khi được giải trình tự thể hệ mới, dữ liệu được lưu trên hệ thống máy chủ cho những bước phân tích và xử lý tiếp theo. Đầu tiên, mỗi trình tự được sắp xếp theo một bộ gen người chuẩn (GRCh37). Để khảo sát và tăng cường tín hiệu đến từ nhau thai, chúng tôi chia nhiễm sắc thể khảo sát thành từng vùng nhỏ, mỗi vùng có kích thước 50.000 base. Trên mỗi vùng nhỏ đó, số lượng read ngắn (độ dài dưới 150 base, đại diện cho read đến từ nhau thai) trên tổng số lượng read được sắp xếp lên nhiễm sắc thể được tính toán, đại diện cho tín hiệu đến từ nhau thai. Sau đó, tín hiệu từng vùng lần lượt được so sánh với tín hiệu nhau thai trung bình ở tất cả các vùng của nhiễm sắc thể để tìm ra mức độ suy giảm tín hiệu từ nhau thai trên vùng được xét. Mức độ suy giảm tín hiệu nhau thai ở mỗi vùng mang thông tin cơ bản để xác định vi mất đoạn ở mẫu được xét. Do đó, chúng tôi sử dụng thông tin này như là các đặc trưng để huấn luyện mô hình máy học dự đoán vi mất đoạn.

**Huấn luyện và đánh giá mô hình học máy:** Tín hiệu trên 20 mẫu (gồm 10 mẫu dương và 10 mẫu âm được chọn ngẫu nhiên) được dùng để huấn luyện mô hình học máy (từ đây gọi là "tập huấn luyện"). Việc huấn luyện mô hình phân loại mẫu dương và âm được thực hiện theo thuật toán Support Vector Machine (SVM)<sup>5</sup>. Ở đó, các hệ số của mô hình phân loại được khởi gán và liên tục thay đổi để tìm ra một siêu mặt phẳng phân tách tốt hai nhóm mẫu âm tính và dương tính của tập huấn luyện. Mô hình, sau khi được huấn luyện, được dùng để dự đoán trên 7 mẫu dương tính và 107 mẫu âm tính khác (từ đây được gọi là "tập đánh giá"). 114 mẫu này không tham gia vào quá trình huấn luyện mô hình để đảm bảo tính khách quan của nghiên cứu. Độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị tiên đoán dương, và giá trị tiên đoán âm của phương pháp được tính trên kết quả dự đoán của mô hình so với nhãn thật của các mẫu trong tập đánh giá.

## III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Chúng tôi đã sử dụng một tập mẫu gồm 10 mẫu dương và 10 mẫu âm để huấn luyện mô hình máy học theo thuật toán SVM để phân biệt 2 loại nhãn là mẫu âm tính và mẫu dương tính

với vi mất đoạn 22q11.2 ở thai nhi. Để đánh giá khả năng hoạt động của mô hình, chúng tôi dùng một tập dữ liệu gồm 7 mẫu mang vi mất đoạn trong khoảng 2,5 triệu base tính từ tọa độ 22q11.2 (được khẳng định dương tính bằng các phương pháp FISH, BoBs, và CNVseq), và 107 mẫu không mang vi mất đoạn. Các mẫu có tuổi thai tại thời điểm lấy mẫu dao động từ 9 tuần đến 29 tuần. Nồng độ DNA ngoại bào của nhau thai (fetal fraction) dao động từ 4 – 34%. Hiệu quả của mô hình học máy được đánh giá dựa trên độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị tiên đoán dương, và giá trị tiên đoán âm.

Kết quả cho thấy phương pháp của chúng tôi phát hiện được 7/7 mẫu chứa vi mất đoạn 22q11.2 (dương tính thật) ở thai nhi và loại được 103/107 mẫu không chứa vi mất đoạn (âm tính thật). Các mẫu dương tính đều có tín hiệu vi mất đoạn trên các vùng khảo sát. Những mẫu âm tính thật cho thấy ít hoặc không có sự suy giảm tín hiệu trên các vùng được khảo sát. Nghiên cứu xác định độ nhạy kỹ thuật là >99% và độ đặc hiệu kỹ thuật là 96,3% (Bảng 1). Giá trị tiên đoán dương là > 63,6% và giá trị tiên đoán âm là >99%. Như vậy, phương pháp của chúng tôi có thể dự đoán tốt vi mất đoạn 22q11.2 ở thai nhi từ các mẫu máu ngoại vi của thai phụ.

**Bảng 1. Độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị tiên lượng dương, và giá trị tiên lượng âm khi đánh giá trên 114 mẫu huyết tương**

Loại số liệu	Công thức tính	Giá trị
Số biến thể dương tính thật	TP	7
Số biến thể âm tính thật	TN	103
Số biến thể dương tính giả	FP	4
Số biến thể âm tính giả	FN	0
Độ nhạy	$TP/(TP + FN)$	>99%
Độ đặc hiệu	$TN/(TN + FP)$	96.3%
Giá trị tiên lượng dương	$TP/(TP + FP)$	63.6%
Giá trị tiên lượng âm	$TN/(TN + FN)$	>99%

*TP, dương tính thật. TN, âm tính thật  
FP, dương tính giả. FN, âm tính giả*

#### IV. BÀN LUẬN

Mặc dù việc sàng lọc trước sinh bằng phương pháp không xâm lấn đã trở nên phổ biến với các bất thường nhiễm sắc thể, nhưng phương pháp nói trên để xác định các vi mất đoạn 22q11.2 ở thai nhi vẫn chưa được phổ biến. Thách thức của phương pháp này nằm ở kích thước vi mất đoạn nhỏ và tín hiệu nhiễu do DNA ngoại bào của mẹ chiếm đa số trong mẫu DNA ngoại bào. Trong qui trình mà chúng tôi xây dựng, mẫu DNA ngoại bào được giải trình tự với

độ phủ tính toán là ~1X. 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. Điều này càng làm việc xác định vi mất đoạn 22q11.2 ở thai nhi trở nên khó khăn hơn. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu trên bước đầu cho thấy phương pháp chúng tôi xây dựng có khả năng sàng lọc tốt.

Chúng tôi gặp 4 biến thể dương tính giả. Những biến thể dương tính giả này có sự suy giảm tín hiệu ở một số vùng nhỏ trong khoảng 2,5 triệu base từ tọa độ 22q11.2. Mô hình dự đoán cũng cho thấy xác suất dương tính tương đối thấp ở 3/4 mẫu, thấp hơn nhiều so với xác suất dự đoán dương tính ở các mẫu dương tính thật. Trong tương lai khi áp dụng qui trình trên thực tế, những mẫu này cần được kiểm tra lại bằng cách tăng số lượng reads giải trình tự để tránh những trường hợp dương tính giả, gây lo lắng không cần thiết cho thai phụ. Tính đến hiện tại, phương pháp chưa ghi nhận mẫu âm tính giả nào, cho thấy khả năng mô hình loại trừ được phần lớn các mẫu không có nguy cơ bệnh.

Một thách thức khác khi xây dựng qui trình cho đột biến vi mất đoạn thai nhi là sự khan hiếm của các mẫu dương tính thật (DNA ngoại bào của thai nhi bị mất trong khoảng 2.5 triệu base từ vị trí 22q11.2). Ở nghiên cứu này, chúng tôi chỉ có thể đánh giá hiệu quả kỹ thuật của qui trình trên cỡ mẫu nhỏ (114 mẫu, gồm 7 mẫu dương tính và 107 mẫu âm tính). Trong đó, các mẫu dương tính được khẳng định bằng FISH không xác định được chi tiết kích thước mất đoạn. Phương pháp này và phương pháp BoBs cũng không khẳng định được các mẫu có vi mất đoạn nhỏ (B-D nested deletion) chiếm 4% tổng số các ca dương tính DiGeorge<sup>6</sup>. Vì vậy, phương pháp của chúng tôi nhiều khả năng chỉ phát hiện được các ca dương tính có kích thước đột biến lớn, trong khi các mẫu được cho là âm tính thật vẫn tiềm ẩn khả năng mang vi mất đoạn kích thước nhỏ. 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. Việc cải tiến mô hình máy học để xác định các nhóm vi mất đoạn nhỏ DiGeorge cũng cần sự bổ sung các mẫu dương tính thuộc các nhóm thiểu số này. 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 vi mất đoạn khi 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 hội chứng mất đoạn 22q11.2. Xét nghiệm này có thể phát hiện chính xác vi mất đoạn gây hội chứng Di George từ DNA ngoại bào của nhau thai trong huyết tương của mẹ với độ nhạy và độ đặc hiệu cao.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Dunqan, Jeffrey S., et al.** "Noninvasive prenatal screening (NIPS) for fetal chromosome abnormalities in a general-risk population: An evidence-based clinical guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)." *Genetics in Medicine* 25.2 (2023): 100336.
2. **Jacobsson, Bo, et al.** "Cell-free DNA screening for prenatal detection of 22q11.2 deletion syndrome." *American journal of obstetrics and gynecology* 227.1 (2022): 79-e1.
3. **McDonald-McGinn DM, Hain HS, Emanuel BS, et al.** 22q11.2 Deletion Syndrome. 1999 Sep 23 [Updated 2020 Feb 27]. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, et al., editors. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2023. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1523/>
4. **Tăng Hùng Sang, Đào Thị Hồng Thuý, Phan Ngọc Minh và cộng sự** (2023). Chẩn Đoán Trước Sinh Các Bất Thường Nhiễm Sắc Thể Bằng Kỹ Thuật Cnvseq Cho Đoàn Hệ 5.008 Thai Kỳ Việt Nam Trong Giai Đoạn 2018 – 2021. *Tạp chí y học dự phòng*, 33, 83-91. DOI: <https://doi.org/10.51403/0868-2836/2023/1230>
5. **Cortes C, Vapnik V.** Support-vector networks. *Mach Learn.* 1995;20(3):273-297.
6. **Morrow, Bernice E., et al.** "Molecular genetics of 22q11.2 deletion syndrome". *American Journal of Medical Genetics – Part A* 176.10 (2018): 2070-2081.

## NGHIÊN CỨU PHÁT HIỆN ĐỘT BIẾN TẠI VÙNG KHỞI ĐỘNG GEN TERT Ở BỆNH NHÂN U THẦN KINH ĐỆM BẰNG GIẢI TRÌNH TỰ SANGER

Lương Bắc An<sup>1</sup>, Hồ Quốc Chương<sup>1</sup>, Dương Bích Trâm<sup>1</sup>,  
Trần Kim Tuyền<sup>2</sup>, Hoàng Anh Vũ<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

**Mở đầu:** U thần kinh đệm là một trong các ung thư có tỉ lệ tử vong cao, chiếm tới hơn 40% các trường hợp u não nguyên phát. Đột biến vùng khởi động phiên mã ngược gen telomerase (pTERT), C228T và C250T, thường gặp ở nhiều loại ung thư khác, trong đó có u thần kinh đệm. Các đột biến này tạo vị trí gắn kết ETS1 mới, làm tăng biểu hiện của enzyme telomerase trực tiếp dẫn đến quá trình sinh ung. Hiện diện đột biến gen pTERT kết hợp với các dấu ấn sinh học khác như đột biến gen IDH1, 1p19q, TP53, EGFR giúp phân loại nhóm bệnh u thần kinh đệm. Sàng lọc đột biến gen pTERT giúp đưa ra phác đồ điều trị phù hợp với tiên lượng điều trị tốt hơn. **Mục tiêu:** Xác định đột biến trên vùng khởi động gen TERT ở bệnh nhân u thần kinh đệm bằng kỹ thuật giải trình tự Sanger. **Phương pháp:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang với 83 mẫu mô vùi nền của bệnh nhân được chẩn đoán mắc u thần kinh đệm. Sử dụng kỹ thuật giải trình tự Sanger phát hiện đột biến C228T và C250T thuộc vùng khởi động gen TERT. **Kết quả:** Phát hiện 27/83 (32,53%) bệnh nhân mang đột biến tại vùng gen pTERT. Trong đó, 17/83 (20,48%) trường hợp mang đột biến C228T và 10/83 (12,05%) trường hợp mang đột biến C250T. **Kết luận:** Nghiên cứu bước đầu mô tả được tỉ lệ mang đột biến tại vùng gen pTERT ở

bệnh nhân u thần kinh đệm tại Việt Nam. **Từ khóa:** U thần kinh đệm, TERT, C228T, C250T, pTERT.

### SUMMARY

#### STUDYING OF THE DETECTION OF TERT PROMOTER MUTATIONS IN GLIOMAS PATIENTS BY USING SANGER SEQUENCING

**Introduction:** Glioma is one of the most lethal cancers, accounting for more than 40% of primary malignant brain tumors. Telomerase reverse transcriptase promoter (pTERT) mutations, especially C228T and C250T, frequently occur in many cancers, including gliomas. These mutations create a novel ETS1 binding site, leading to increased telomerase expression, directly contributing to tumorigenesis. The presence of pTERT mutations correlates with the presence of other biomarkers, such as IDH1, 1p19q, TP53, EGFR provide valuable insights into the disease. Screening for the presence of variants in pTERT may enhance prognosticate patients which may, in turn, improve clinical outcome. **Objective:** To study the proportion of C228T and C250T mutations in TERT promoter in DNA obtained from patients with gliomas. **Methods:** A cross-sectional descriptive study was conducted using 83 FFPE tissue samples from gliomas diagnosed patients. Sanger sequencing was used to identify C228T and C250T mutation in TERT promoter. **Results:** 27/83 (32.53%) patients had mutations in the TERT promoter. Among the mutated cases, 17/83 (20.48%) patients had the C228T mutation, and 10/83 (12.05%) cases had the C250T mutation. **Conclusion:** Initial research described the rate of mutations in TERT promoter in gliomas patients in Viet Nam. **Keywords:** Gliomas, TERT, C228T, C250T, pTERT.

<sup>1</sup>Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

<sup>2</sup>Bệnh viện Chợ Rẫy

Chịu trách nhiệm chính: Lương Bắc An

Email: [luongbacan1991@gmail.com](mailto:luongbacan1991@gmail.com)

Ngày nhận bài: 23.11.2023

Ngày phản biện khoa học: 22.12.2023

Ngày duyệt bài: 24.01.2024