ĐÁNH GIÁ GIÁ TRỊ CỦA KỸ THUẬT PRENATAL BOBS CHẨN ĐOÁN TRƯỚC SINH MỘT SỐ BẤT THƯỜNG NHIỄM SẮC THỂ TẠI BỆNH VIỆN PHỤ SẢN HÀ NỘI

Đinh Thuý Linh[1], Hoàng Hải Yến[1], Phạm Thế Vương[1], Nguyễn Duy Ánh[1]

TÓM TẮT

Trong các bất thường di truyền hiện nay, ngoài các bất thường về số lượng nhiễm sắc thể (NST), các vi mất đoạn, lặp đoạn NST cũng gây ra các dị tật nặng nề. Kỹ thuật Prenatal-BoBs (BACs – on – Beads) ngoài khả năng xác định các dị bội thường gặp còn có khả năng chẩn đoán 9 hội chứng vi mất đoạn NST mà các kỹ thuật khác còn hạn chế. **Mục tiêu:** Đánh giá giá trị kỹ thuật Prenatal BoBs trong chẩn đoán trước sinh một số bất thường NST. **Đối tượng, phương pháp nghiên cứu:** 2578 mẫu dịch ối của thai nhi tuổi thai 16 – 27 tuần có nguy cơ cao bất thường NST tại bệnh viện Phụ Sản Hà Nội từ 05/2016 – T12/2022, được thực hiện đồng thời 2 kỹ thuật: Prenatal BoBs và nuôi cấy tế bào ối. **Kết quả:** Prenatal BoBs phát hiện 273 trường hợp bất thường NST (10.6%) bao gồm 234 (9.1%) lệch bội NST và 39 (1.5%) mất đoạn nhỏ/nhân đoạn nhỏ. 234 trường hợp lệch bội NST bao gồm 129 trường hợp trisomy 21, 33 trường hợp trisomy 18, 15 trường hợp trisomy 13, 56 trường hợp lệch bội NST giới tính, 1 trường hợp bất thường không rõ ràng. 39 trường hợp mất đoạn nhỏ/ nhân đoạn nhỏ nhiễm sắc thể bao gồm bao gồm 21 TH mất đoạn 22q11.2, 3 TH mất đoạn 5p15, 1 TH mất đoạn 4p16.3, 1 TH mất đoạn 15q11-12, 1 TH mất đoạn mất đoạn 17p11.2, 7 TH lặp đoạn 22q11.2 và 5 nhân đoạn nhỏ khác. Kết quả Prenatal BoBs có giá trị tiên đoán dương 100% trong chẩn đoán lệch bội 13,18,21, NST giới tính và 9 hội chứng vi mất đoạn nhưng bị hạn chế trong phát hiện bất thường thể khảm. Prenatal BoBs giúp phát hiện thêm 1.5% bất thường mất đoạn nhỏ/nhân đoạn nhỏ so với karyotyping. **Kết luận:** Prenatal BoBs là xét nghiệm có độ chính xác cao, thời gian thực hiện ngắn giúp chẩn đoán sớm các lệch bội NST và 9 hội chứng vi mất đoạn, đặc biệt là HC Digeorge.

Từ khoá: BACs-on-beads, chẩn đoán trước sinh, bất thường nhiễm sắc thể.

SUMMARY

EVALUATING THE VALUE OF PRENATAL BOBS IN PRENATAL DIAGNOSIS CHROMOSOMAL ABNORMALITY IN HANOI OBSTETRICS AND GYNECOLOGY HOSPITAL

Among chromosome abnormality prenatal diagnosis tests, karyotyping is still the golden standard, however recent development of other bio-molecular techniques also provided the possibility to early diagnose and detect syndromes such as Down, Patau, Edwards, or defects in sex-determination chromosome after 24-48 hours. Particularly, Prenatal BoBs technique can diagnose 9 popular chromosomal micro-deletion syndromes causing serious symptoms among children, which other techniques still have limited detecting capability. **Objective:** Evaluate the result of Prenatal BoBs technique in prenatal diagnosis of several chromosomal abnormalities. **Subject - Methodology:** Prenatal BoBs testing was applied to 2578 amniocentesis samples of 16-27 week of gestation with high risk of chromosomal abnormality in Hanoi Obstetrics and Gynecology Hospital from 05/2016 – 12/2022. Aside from Prenatal BoBs technique, karyotyping was also applied. **Result:** Prenatal BoBs was able to identify 273 cases (10.6%) of chromosomal abnormality, among which 234 cases (9.1%) of aneuploidy and 39 cases (1.5%) of chromosomal micro-deletion/duplication syndromes. 234 cases of aneuploidy include 129 cases of trisomy 21, 33 cases of trisomy 18, 15 cases of trisomy 13, 56 cases of sex aneuploidy, 1 case ambiguous. 39 cases of chromosomal micro-deletion/duplication syndromes include 21 cases of 22q11.2 deletion, 3 cases of 5p15 deletion, 1 case of 4p16.3 deletion, 1 case of 15q11-12 deletion, 1 case of 17p11.2 deletion, 7 cases of 22q11.2 duplication and 5 cases of others duplication. PPV of Prenatal BOBs is 100% in diagnose T13, T18, T21, sex aneuploidy and 9 popular chromosomal micro-deletion syndromes, but it can be limited to chromosomal mosaicism. Prenatal BOBs provided improved detection of 1.5% micro-deletion/duplication syndromes, as compared with karyotype analysis. **Conclusion:** Prenatal BoBs is a genetic test capable of providing highly accurate results in a rather short time (48h), which able to early diagnose abnormality of chromosome 13, 18, 21, 23 and 9 popular chromosomal micro-deletion syndromes, especially DiGeorge syndrome.

Keywords: BACs - on – beads, prenatal diagnosis, aneuploidy.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong các bất thường bẩm sinh thì hiện nay bất thường nhiễm sắc thể (NST) vẫn là một vấn đề lớn nhận được nhiều sự quan tâm trong ngành sản phụ khoa thế giới nói chung và ở Việt Nam nói riêng do những biểu hiện nặng nề, đặc biệt là đa dị tật về hình thái, chậm phát triển trí tuệ và chưa có biện pháp điều trị đặc hiệu. Trong các bất thường di truyền hiện nay, ngoài các bất thường về số lượng nhiễm sắc thể (NST),

[1]*Bệnh viện Phụ sản Hà Nội*
Chịu trách nhiệm chính: Đinh Thuý Linh
Email: DrDinhLinhobgyn@gmail.com
Ngày nhận bài: 10.01.2024
Ngày phản biện khoa học: 19.2.2024
Ngày duyệt bài: 13.3.2024

các vi mất đoạn, lặp đoạn NST cũng gây ra các dị tật nặng nề. Kỹ thuật Prenatal-BoBs (BACs – on – Beads) ngoài khả năng xác định các dị bội thường gặp còn có khả năng chẩn đoán 9 hội chứng vi mất đoạn NST mà các kỹ thuật khác còn hạn chế như hội chứng DiGeorge, Williams-Beuren, Prader -Willi, Angelman, Smith-Magenis, Wolf-Hirschhorn, Cri du Chat, Langer-Giedion, và Miller-Dieker...[1],[2]. Karyotyping hiện nay vẫn là tiêu chuẩn vàng trong chẩn đoán trước sinh các bất thường nhiễm sắc thể, tuy nhiên hạn chế của phương pháp này là có thể bỏ sót các trường hợp vi mất đoạn nhiễm sắc thể và thời gian trả kết quả kéo dài (2 tuần), kỹ thuật Prenatal-BoBs đã khắc phục được các hạn chế của lý thuật nuôi cấy tế bào ối [4],[5].

Mục tiêu nghiên cứu: Xác định tỷ lệ bất thường một số nhiễm sắc thể qua kỹ thuật Prenatal-BoBs tại Bệnh viện Phụ sản Hà Nội từ T5/2016 đến T12/2022 và đánh giá giá trị xét nghiệm Prenatal-BoBs trong chẩn đoán trước sinh.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu là những thai phụ tuổi thai từ 16 – 27 tuần đến khám thai tại Bệnh viện Phụ sản Hà Nội có chỉ định chọc hút nước ối và tự nguyện chọc ối làm xét nghiệm nhiễm sắc đồ qua nuôi cấy tế bào ối và xét nghiệm Prenatals BoBs.

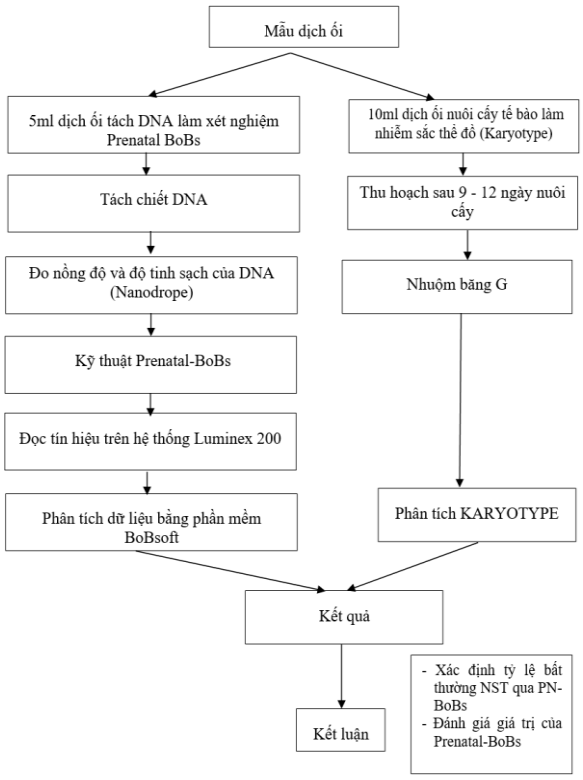
Chỉ định chọc hút nước ối:

- Tuổi mẹ ≥ 35 tuổi
- Xét nghiệm sàng lọc có kết quả nguy cơ cao
- Siêu âm có bất thường hình thái thai nhi
- Tiền sử sinh con có dị tật,...

Nguyên lý kỹ thuật: Kỹ thuật BoBs (BACs-on-Beads) dựa trên nguyên tắc sử dụng mẫu dò là các dòng nhiễm sắc thể nhân tạo có chứa các đoạn ngắn DNA của người có gắn các hạt bead, thông qua sự khác biệt giữa DNA mẫu với DNA chứng để phát hiện các trường hợp mất đoạn hoặc nhân đoạn trên DNA dựa trên khả năng bắt cặp giữa các DNA dò với một mạch đơn của DNA mẫu theo nguyên tắc bổ sung giữa các base khi phản ứng lai xảy ra. DNA mẫu sau khi được tách chiết sẽ cùng với DNA chứng đi qua bước gắn chất đánh dấu biotin, làm sạch rồi được lai với các DNA dò trên các bead. Các hạt bead khác nhau được gắn DNA dò khác nhau (5 đầu dò khác nhau được sử dụng cho mỗi nhiễm sắc thể 13, 18, 21, X và Y cùng với 4 tới 8 đầu dò khác nhau cho mỗi vùng liên quan tới vi mất đoạn). Cuối cùng là bước gắn các phân tử đánh dấu vào DNA mẫu. Các hạt bead sẽ được đọc trên hệ thống máy quét Luminex 200 để đo lượng tín hiệu huỳnh quang của DNA chứng và DNA mẫu. Số liệu được phân tích bởi phần mềm chuyên dụng Bobsoft, kết quả cuối cùng thể hiện dưới dạng tỷ lệ giữa số lượng tín hiệu huỳnh quang của DNA mẫu trên số lượng tín hiệu huỳnh quang của DNA chứng, từ đó nhận định về tình trạng dị bội của các nhiễm sắc thể trong vùng thiết kế [6],[7],[8],[9].

- Nếu mẫu DNA cần phân tích có số lượng NST bình thường sẽ thể hiện tỷ lệ bằng 1 do có sự cân bằng giữa lượng DNA mẫu và DNA chứng.
- Nếu thừa DNA (mất đoạn) sẽ thể hiện tỷ lệ nhỏ hơn 1 do có lượng DNA mẫu nhỏ hơn DNA chứng.
- Nếu thiếu DNA (nhân đoạn) sẽ thể hiện tỷ lệ lớn hơn 1 do có lượng DNA mẫu lớn hơn DNA chứng.

Mô hình nghiên cứu



III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1. Phân loại chỉ định chọc hút nước ối và tỷ lệ bất thường theo các nhóm chỉ định

Chỉ định chọc ối	Số lượng	Số trường hợp và PPV bất thường lệch bội	Số trường hợp và PPV bất thường vi mất đoạn/lặp đoạn
Test sàng lọc sinh hóa nguy cơ cao	814	16 (1.9%)	4 (0.5%)
Test sàng lọc NIPT nguy cơ cao	197	78 (39.1%)	1 (0.6%)

Thai bất thường siêu âm	1470	138 (9.4%)	34 (2.3%)
Tiền sử sinh con dị tật	97	3 (3.1%)	0 (0%)
Tổng	**2578**	**234 (9.1%)**	**39 (1.5%)**

Chỉ đinh chọc hút nước ối và tỷ lệ bất thường theo các nhóm chỉ định xét nghiệm của 2578 bệnh nhân được phân loại trong bảng 1. Trong đó chỉ định nhiều nhất là nhóm bệnh nhân có kết quả siêu âm thai bất thường.

Bảng 2. Kết quả bất thường NST chẩn đoán qua xét nghiệm Prenatal BoBs và so sánh với karyotyping truyền thống

Bất thường NST		**Kết quả prenatal Bobs**		**Kết quả karyotyping**
		n	**%**	**n**
Lệch bội	Trisomy 21	129	47.3%	130
	Trisomy 18	33	12.1%	33
	Trisomy 13	15	5.5%	15
	Lệch bội NST giới tính	56	20.5%	61
	Bất thường không rõ ràng	1	0.4%	1 (69,XXY)
9 hội chứng vi mất đoạn/vi lặp đoạn	HC Digeorge (-22q11,2)	21	7.7%	Không phát hiện
	HC Criduchat(-5p15,3p15,2)	3	1.1%	Không phát hiện
	HC Wolf-Hirschhorn (-4p16.3)	1	0.4%	Không phát hiện
	HC Prader-willi/Angelman (-15q11q12)	1	0.4%	Không phát hiện
	HC Smith-Magenis (-17p11.2)	1	0.4%	Không phát hiện
	Nhân đoạn nhỏ 22q11.2	7	2.6%	Không phát hiện
	Nhân đoạn nhỏ 4p16.3	1	0.4%	Không phát hiện
	Nhân đoạn nhỏ 7q11.2	1	0.4%	1 (46,X,der(X)t(X;7)
	Nhân đoạn nhỏ 8q23q24	1	0.4%	Không phát hiện
	Nhân đoạn nhỏ 15q11q12	1	0.4%	1 (47,XX,+mar)
	Nhân đoạn nhỏ 17p11.2	1	0.4%	Không phát hiện

Qua kỹ thuật BoBs xác định được 273/2578 bất thường NST chiếm 10.6%. Trong đó, 234 trường hợp (9.0%) là các lệch bội NST và 39 trường hợp (1.5%) là các hội chứng mất đoạn nhỏ/ nhân đoạn nhỏ. 21/39 các trường hợp mất đoạn nhỏ/nhân đoạn nhỏ là hội chứng Digeorge với bất thường trên siêu âm là các dị tật tim chủ yếu là dị tật vùng thân-nón động mạch. Kết quả nghiên cứu này cho thấy sử dụng kỹ thuật BoBs phát hiện một tỷ lệ không nhỏ thai mắc các hội chứng mất đoạn nhỏ, nhân đoạn nhỏ đặc biệt là HC Digeorge.

IV. BÀN LUẬN

Xét về giá trị của các phương pháp sàng lọc trước sinh trong bảng 1, sàng lọc NIPT có giá trị cao nhất trong sàng lọc các lệch bội nhiễm sắc thể với tỷ lệ dương tính với lệch bội là 39.1%, trong khi đó siêu âm hình thái thai có giá trị cao trong sàng lọc cả lệch bội NST và các hội chứng vi mất đoạn với tỷ lệ dương tính lần lượt là 9.4% và 2.3%. NIPT đóng vai trò quan trọng trong sàng lọc đặc biệt là HC Down và NST giới tính-những bất lệch bội không có bất thường hình thái siêu âm hoặc dấu hiệu không rõ ràng. Ngược lại siêu âm lại giúp sàng lọc tốt trisomy 13,18 và các hội chứng vi mất đoạn. 34/39 trường hợp vi mất đoạn/nhân đoạn có bất thường hình thái trên siêu âm, trong đó chủ yếu là dị tật tim. Do đó, hiện nay phối hợp giữa NIPT và siêu âm hình thái giúp chẩn đoán ngày càng nhiều các bất thường NST cả ở mức độ lêch bội và vi mất đoạn.

Đối chiếu giữa kết quả NST đồ và karyotyping trong phát hiện lệch bội NST 13, 18, 21, NST giới tính và 9 hội chứng vi mất đoạn thấy rằng kết quả trùng khớp trong hầu hết các trường hợp lệch bội NST 13, 18, 21, NST giới tính (233/238 trường hợp). Có 1 trường hợp HC Down thể khảm 20% và 5 TH lệch bội NST giới tính dạng khảm BOBs không chẩn đoán được. Ngược lại 39 TH vi nhân đoạn BOBs chẩn đoán được thì chỉ có 2 TH karyotyping đưa ra chẩn đoán do đây là 2 trường hợp nhân đoạn lớn bao trùm đoạn thiết kế đầu dò vùng vi nhân đoạn của Bobs. Trong nghiên cứu này chúng tôi cũng gặp 01 trường hợp BoBs cho kết quả bất thường không rõ ràng với tỷ lệ tín hiệu NST X ở khoảng từ 1-2, tỷ lệ tín hiệu Y ở khoảng từ 0-1. Với kinh nghiệm của chúng tôi, chúng tôi nhận định khả năng đây là bất thường tam bội thể dạng 69,XXY. Kết quả karyotyping xác nhận nhận định trên là đúng. Tuy nhiên với các tam bội thể 69,XXX, prenatal BoBs sẽ không đưa ra bất cứ manh mối nào do kĩ thuật này dựa trên so sánh tỷ lệ bất thường tương đối giữa các nhiễm sắc thể.

V. KẾT LUẬN

Prenatal BoBs là xét nghiệm di truyền phân tử có độ chính xác cao với thời gian thực hiện xét nghiệm ngắn (48h), giúp chẩn đoán sớm các trường hợp thai nhi có các bất thường số lượng NST 13, 18, 21, 23, và đặc biệt có khả năng phát hiện một số hội chứng vi mất đoạn NST thường gặp. Tuy nhiên, kỹ thuật Prenatal BoBs vẫn cần được tiến hành song song cùng kỹ thuật nuôi cấy tế bào ối để có được những chẩn đoán chính xác nhất các rối loạn di truyền ở thai nhi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Vialard F, Simoni G, Aboura A, et al.** Prenatal BACs-on-BeadsTM: a new technology for rapid detection of aneuploidies and microdeletions in prenatal diagnosis. Prenat Diagn 2011;31:500-8
2. **Shaffer LG, Coppinger J, Morton SA, et al.** The development of a rapid assay for prenatal testing of common aneuploidies and microdeletion syndromes. Prenat Diagn 2011;31:778-87
3. **Grati FR, Gomes DM, Ganesamoorthy D, et al.** Application of a new molecular technique for the genetic evaluation of products of conception. Prenat Diagn 2013; 33(1):32-41
4. **Vialard F, Simoni G, Gomes DM, et al.** Prenatal BACs-on-BeadsTM: the prospective experience of five prenatal diagnosis laboratories. Prenat Diagn 2012;32:329-35
5. **Piotrowski K, Henkelman M, Zajaczek S.** Will the new molecular karyotyping BACs-on-Beads technique replace the traditional cytogenetic prenatal diagnostics? Preliminary reports. Ginekol Pol 2012;83: 284-90
6. **Sheath KL, Duffy L, Asquith P, et al.** Bacterial artificial chromosomes (BACs)-on- BeadsTM as a diagnostic platform for the rapid aneuploidy screening of products of conception. Mol Med Rep 2013;8:650-4
7. **Vialard F, Simoni G, Gomes DM et al** (2012), "Prenatal BACs-on-Beads: the prospective experience of five prenatal diagnosis laboratories," Prenatal Diagnosis, 32(4), pp.329–335
8. **Vialard F, Simoni G, Aboura A, De Toffol S, Molina Gomes D, Marcato L, et al** (2011), "Prenatal BACs-on-Beads™: a new technology for rapid detection of aneuploidies and microdeletions in prenatal diagnosis", Prenat Diagn, 31, pp.500–8.
9. **KW Choy, YK Kwok, YKY Cheng et al** (2014), "Diagnostic accuracy of the BACs-on-Beads™ assay versus karyotyping for prenatal detection of chromosomal abnormalities: a retrospective consecutive case series", BJOG, 121 (10), pp 1245-52.

GIẢI TRÌNH TỰ SANGER PHÁT HIỆN ĐỘT GEN PARK7 TRÊN BỆNH NHÂN PARKINSON KHỞI PHÁT SỚM

Lê Gia Hoàng Linh[1], Võ Văn Thành Niệm[1]

TÓM TẮT

Giới thiệu: Bệnh Parkinson (PD: Parkinson's disease) là bệnh đa yếu tố, có thể do sự tương tác bởi nhiều gen hoặc do sự thay đổi tính nhạy cảm của các alen, các yếu tố môi trường, hoặc do tương tác qua lại giữa môi trường và biểu hiện gen, từ đó làm ảnh hưởng đến hệ thần kinh. Gen PARK7 nằm trên nhiễm sắc thể số 1 mã hóa cho protein DJ-1, đột biến gen PARK7 gây ra các dạng PD di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường. Nghiên cứu này nhằm mục đích khảo sát các bất thường trên gen PARK7 để từ đó giúp ta hiểu thêm về đặc điểm di truyền của bệnh nhân Parkinson Việt Nam. **Mục tiêu**: Xây dựng quy trình phát hiện đột biến gen PARK7 bằng giải trình tự Sanger trên 20 bệnh nhân Parkinson khởi phát sớm. **Phương pháp:** Thu thập mẫu máu ngoại vi của 20 bệnh nhân PD khởi phát sớm, tách chiết DNA toàn phần, thiết kế mồi và chuẩn hóa quy trình PCR khuếch đại 7 exon của gen PARK7. Thực hiện giải trình tự các exon này và so sánh kết quả với trình tự chuẩn từ cơ sở dữ liệu của Trung tâm Thông tin Công nghệ Sinh học Quốc gia Hoa Kỳ (NCBI) nhằm phát hiện các biến thể trên 20 mẫu bệnh nhân. **Kết quả:** Thiết kế được các đoạn mồi phù hợp, chuẩn hóa được quy trình giải trình tự Sanger gen PARK7. Phát hiện 1 biến thể dị hợp tử c.103G>A (p. Val35Ile) trên exon 2 của 1 bệnh nhân. **Kết luận:** Nghiên cứu đã tự thiết kế các cặp mồi có tính đặc hiệu cao, khuếch đại được các exon mục tiêu qua kết quả PCR và giải trình tự. Xây dựng và tối ưu thành công quy trình giải trình tự Sanger các exon trên gen PARK7. Nghiên cứu này là tiền đề thực hiện các quy trình giải trình tự các gen liên quan đến bệnh lý Parkinson.

Từ khóa: Bệnh Parkinson, đột biến gen, PARK7

SUMMARY

SANGER SEQUENCED DETECTED PARK7 GEN MUTATION IN EARLY ONSET PARKINSON DISEASE

Introduction: Parkinson's disease (PD) is a multifactorial disease. The pathogenesis of PD might result from gene-gene interaction, susceptible alleles, environmental factors, or interactions between genes and environmental factors, thereby affecting the nervous system. PARK7 gene is located on chromosome 1, encode for DJ-1 protein. Mutations of

[1]*Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh*
Chịu trách nhiệm chính: Lê Gia Hoàng Linh
Email: lghlinh@ump.edu.vn

Ngày nhận bài: 10.01.2024
Ngày phản biện khoa học: 22.2.2024
Ngày duyệt bài: 14.3.2024