

# CHẨN ĐOÁN TRƯỚC SINH CÁC TRISOMY 21, 18 VÀ 13 BẰNG KỸ THUẬT QF-PCR Ở NHÓM THAI PHỤ CÓ NGUY CƠ CAO

Hà Thị Minh Thi, Lê Trung Nghĩa, Nguyễn Việt Nhân, Võ Văn Đức, Lê Thanh Nhã Uyên,  
Lê Phan Tường Quỳnh, Đoàn Hữu Nhật Bình, Lê Tuấn Linh  
Trường Đại học Y Dược, Đại học Huế

## Tóm tắt

**Đặt vấn đề:** Chẩn đoán trước sinh trisomy 21, 18 và 13 đóng vai trò quan trọng trong nâng cao chất lượng dân số. Đề tài này nhằm mục tiêu: (1) Xác định tỷ lệ các trisomy 21, 18 và 13 được chẩn đoán bằng kỹ thuật QF-PCR từ tế bào ối của các thai có nguy cơ cao; và (2) Khảo sát mối liên quan của các trisomy được chẩn đoán với một số đặc điểm của mẹ và thai nhi. **Đối tượng và phương pháp:** 170 thai phụ có kết quả sàng lọc lúc tuổi thai từ 11 tuần đến 13 tuần 6 ngày là nguy cơ cao trisomy 21, 18 và 13. Chẩn đoán trước sinh bằng kỹ thuật QF-PCR với DNA chiết tách từ tế bào ối. **Kết quả:** Tỷ lệ trisomy được chẩn đoán là 9,4%; trong đó, trisomy 21 chiếm 68,8%, trisomy 18 chiếm 31,2%, không phát hiện thai trisomy 13. Có mối liên quan giữa các trisomy được chẩn đoán với tuổi mẹ (ngưỡng tối ưu 30,5 tuổi) và khoảng sáng sau gáy (ngưỡng tối ưu 1,95 mm). Giá trị trung vị MoM  $\beta$ -hCG tự do tăng ở nhóm trisomy 21 (4,35,  $p = 0,021$ ) và giảm ở nhóm trisomy 18 (0,13,  $p < 0,001$ ) so với nhóm không trisomy (2,28). Giá trị trung vị MoM PAPP-A huyết thanh giảm ở nhóm trisomy 18 (0,14,  $p = 0,004$ ) so với nhóm không trisomy (0,54). **Kết luận:** Chẩn đoán trước sinh bằng kỹ thuật QF-PCR đã phát hiện tỷ lệ đáng kể các trisomy 21 và 18, có mối liên quan giữa các trisomy được chẩn đoán trước sinh với tuổi mẹ, khoảng sáng sau gáy,  $\beta$ -hCG tự do và PAPP-A huyết thanh.

**Từ khóa:** chẩn đoán trước sinh, trisomy, QF-PCR

## Abstract

# PRENATAL DIAGNOSIS FOR TRISOMY 21, 18 AND 13 BY QUANTITATIVE FLUORESCENT POLYMERASE CHAIN REACTION AMONG PREGNANT WOMEN WITH HIGH RISK

*Ha Thi Minh Thi, Le Trung Nghia, Nguyen Viet Nhan, Vo Van Duc, Le Thanh Nha Uyen,  
Le Phan Tuong Quynh, Doan Huu Nhat Binh, Le Tuan Linh  
Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue University*

**Introduction:** Prenatal diagnosis of trisomy 21, 18 and 13 plays a very important role in the improving population quality. This study was aimed at (1) Identifying the prevalence of trisomy 21, 18 and 13 by QF-PCR from amniotic cells of high-risk pregnancies; and (2) Evaluating the association between diagnosed trisomies and some characteristics of mother and fetus. **Objectives and methods:** 170 pregnant women with high risk of having trisomy 21, 18 or 13 fetuses during first trimester screening (gestation age from 11 weeks to 13 weeks 6 days). DNA was extracted from amniocytes for prenatal diagnosis using QF-PCR. **Results:** The prevalence of trisomies was 9.4%, among which trisomy 21 and trisomy 18 accounted for 68.8% and 31.2%, respectively; none of them was trisomy 13. There was the significant association between diagnosed trisomies and maternal age (cut-off 30.5 years old) and nuchal translucency thickness (cut-off 1.95 mm). MoM median of free  $\beta$ -hCG increased in trisomy 21 group (4.35,  $p = 0.021$ ) and decreased in trisomy 18 group (0.13,  $p < 0.001$ ) as compared to the non-trisomy group (2.28). MoM median of serum PAPP-A decreased in trisomy 18 group (0.14,  $p = 0.004$ ) as compared to the non-trisomy group (0.54). **Conclusion:** Prenatal diagnosis by QF-PCR detected remarkable prevalence of fetuses with trisomy 21 và 18. There was the significant association between diagnosed trisomies and maternal age, nuchal translucency thickness, free  $\beta$ -hCG and serum PAPP-A.

**Keywords:** prenatal diagnosis, trisomy, QF-PCR

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Những bất thường số lượng nhiễm sắc thể thường có khả năng sống đến khi sinh chủ yếu là trisomy 21, trisomy 18 và trisomy 13, chiếm tỷ lệ xấp xỉ 90% các bất thường nhiễm sắc thể có biểu hiện kiểu hình nặng với nhiều dị tật bẩm sinh [14]. Từ những năm 1970, kỹ thuật lập karyotype dựa trên nhuộm băng nhiễm sắc thể đã được sử dụng thường quy và trở thành tiêu chuẩn vàng trong chẩn đoán bất thường nhiễm sắc thể [10]. Tuy nhiên, kỹ thuật di truyền tế bào truyền thống này đòi hỏi phải nuôi cấy tế bào, đặc biệt trong chẩn đoán trước sinh thì việc nuôi cấy tế bào ối tương đối khó khăn và mất nhiều thời gian, kết quả thường chỉ có được sau 3-4 tuần. Trong thực tế, nhiều trường hợp khi thai phụ nhận được kết quả chẩn đoán thì tuổi thai đã trên 20 tuần, làm tăng nguy cơ tai biến cho thai phụ nếu phải thực hiện thủ thuật đình chỉ thai kỳ.

Với sự ra đời và phát triển nhanh chóng của các kỹ thuật sinh học phân tử, đặc biệt là các kỹ thuật dựa trên nền tảng PCR (Polymerase Chain Reaction - based techniques) đã cho phép chẩn đoán một số bất thường nhiễm sắc thể bằng cách phân tích các trình tự DNA đặc hiệu. Kỹ thuật QF-PCR (Quantitative Fluorescent Polymerase Chain Reaction) sử dụng các cặp mồi đánh dấu huỳnh quang để khuếch đại các đa hình STR (short tandem repeat: đoạn lặp nối tiếp ngắn), là các trình tự DNA đặc hiệu theo nhiễm sắc thể và khác nhau về chiều dài giữa các cá thể [13]. Vì vậy, có thể cho phép phát hiện bất thường số lượng nhiễm sắc thể thông qua các đỉnh tín hiệu huỳnh quang được nhận diện trên hệ thống điện di mao quản, với đầu đọc và phần mềm chuyên dụng.

Kỹ thuật QF-PCR có nhiều ưu điểm là chỉ cần rất ít lượng tế bào ối, cho kết quả nhanh chóng chỉ sau 1-2 ngày, giá thành tương đương với kỹ thuật truyền thống. Nghiên cứu của Grimshaw đã cho thấy kỹ thuật QF-PCR có độ nhạy và độ đặc hiệu rất cao, lần lượt là 95,65% và 99,97% [11]. Do đó, QF-PCR đang dần dần trở thành kỹ thuật được ưu tiên thực hiện cho các bà mẹ mang thai có nguy cơ cao để chẩn đoán trước sinh thai mắc các trisomy 21, 18 và 13.

Việc chẩn đoán xác định bất thường các nhiễm sắc thể thường gặp trên cho các thai có nguy cơ cao là một bước không thể thiếu được trong các chương trình sàng lọc và chẩn đoán trước sinh, nhằm nâng cao chất lượng dân số. Vì vậy chúng tôi thực hiện đề tài này nhằm mục tiêu (1) *Xác định tỷ lệ các trisomy 21, 18 và 13 được chẩn đoán bằng kỹ thuật QF-PCR từ tế bào ối của các thai có nguy cơ cao;* và (2) *Đánh giá mối liên quan giữa các trisomy được chẩn đoán với một số đặc điểm của mẹ và thai nhi.*

## 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Các thai phụ có tham gia chương trình sàng lọc lúc tuổi thai từ 11 tuần đến 13 tuần 6 ngày [16] với kết quả là thai có nguy cơ cao mắc ít nhất một trong các trisomy 21, 18 và 13. Thời gian lấy mẫu nghiên cứu từ 1/5/2017 đến 31/1/2018, tại Trung tâm Sàng lọc – chẩn đoán trước sinh và sơ sinh, bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế.

- *Tiêu chuẩn chọn mẫu:*

+ Thai phụ được thực hiện các xét nghiệm sàng lọc ở tuổi thai từ 11 tuần đến 13 tuần 6 ngày với kết luận thai có nguy cơ cao ít nhất một trong ba loại trisomy 21, 18 và 13 dựa trên các chỉ số tuổi mẹ, siêu âm thai, PAPP-A (pregnancy-associated plasma protein A) và  $\beta$ -hCG tự do (free beta-human chorionic gonadotrophin) huyết thanh mẹ được tính dựa trên các phần mềm FMF và PRISCA. Ngưỡng nguy cơ cao trisomy 21 là 1/250; ngưỡng nguy cơ cao trisomy 18 và 13 là 1/150 (phần mềm FMF) hoặc 1/200 (phần mềm PRISCA).

+ Thai phụ đồng ý chọn ối để làm xét nghiệm chẩn đoán xác định các trisomy 21, 18 và 13 bằng kỹ thuật QF-PCR.

- *Tiêu chuẩn loại trừ:* Những trường hợp đa thai.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

- *Thiết kế nghiên cứu:* Mô tả cắt ngang

- *Cỡ mẫu:* N = 170. Cỡ mẫu tối thiểu được tính theo công thức:

$$N = Z_{(1-\alpha/2)}^2 p(1-p)/d^2$$

Trong đó:

• N: Cỡ mẫu nhỏ nhất phải đạt được (số thai phụ mang thai có nguy cơ cao mắc trisomy 21, trisomy 18, trisomy 13).

•  $\alpha$ : Mức ý nghĩa thống kê được chọn là 0,05, vì vậy  $Z_{(1-\alpha/2)} = 1,96$ .

• d: độ chính xác tuyệt đối mong muốn. Để nghiên cứu có giá trị về thống kê, chúng tôi chọn d = 0,05.

• p là ước đoán tham số chưa biết của quần thể. Tỷ lệ thai được chẩn đoán mắc các trisomy 21, 18 và 13 trong số các thai có nguy cơ cao ở một nghiên cứu từ trước tại Trung tâm sàng lọc-chẩn đoán trước sinh và sơ sinh năm 2012 là 9,6% [1], vậy p = 0,096.

Như vậy cỡ mẫu tối thiểu của nghiên cứu là 134. Cỡ mẫu trong nghiên cứu này 170 là đạt yêu cầu.

- *Kỹ thuật QF-PCR chẩn đoán xác định các trisomy 21, 18 và 13:*

+ DNA được tách chiết từ tế bào ối bằng kit Instagene Matrix (Bio-Rad), đo nồng độ bằng máy

NanoDrop 2000.

+ Khuếch đại các trình tự STR (Short Tandem Repeat) bằng bộ kit Aneufast QF-PCR, mỗi mẫu được thực hiện hai ống phản ứng là S1 và S2, đều có chứa 7 µl dung dịch mẫu (S1 hoặc S2), 3 µl Aneufast PCR mix, 1-10 ng DNA (tùy theo nồng độ DNA đo được để lấy thể tích thích hợp trong khoảng 1-5 µl), thêm nước cất đã khử nuclease để đạt tổng thể tích phản ứng là 15 µl. Phản ứng khuếch đại được thực hiện trên máy PCR Applied Biosystems 2720 theo điều kiện luân nhiệt phù hợp với các mẫu gắn huỳnh quang và enzyme Hot Start Taq polymerase như sau: 96°C, 2 phút; 10 chu kỳ 94°C 30 giây, 60°C 45 giây, 70°C 45 giây; 15 chu kỳ 90°C 30 giây, 60°C 45 giây, 70°C 45 giây; kéo dài cuối cùng 60°C 30 phút; giữ ở 4°C.

+ Bộ mẫu S1 tương ứng các marker AMXY, DXYS267, D21S1414, D21S1446, D21S1442, D18S535, D18S391, D18S976, D13S797, D13S631, D13S305. Bộ mẫu S2 tương ứng các marker SRY, X22, DXYS218, HPRT, D21S1411, D21S1435, D13S634, D13S258, D18S386, D18S390.

+ Biến tính sản phẩm PCR và chuẩn bị điện di mao quản: 13 µl HiDi formamide, 0,25 µl GeneScan-500 LIZ, 0,5 µl sản phẩm PCR của phản ứng S1 và 0,5 µl sản phẩm PCR của phản ứng S2. Ủ 95°C, 10 phút. Điện di sản phẩm đã biến tính trên hệ thống phân tích gene tự động ABI 3130.

+ Phân tích kết quả bằng phần mềm GeneMapper v3.2. Kết quả đủ tiêu chuẩn chẩn đoán khi: Có ít nhất 2 marker tương ứng nhiễm sắc thể phân tích chứa các allele dị hợp tử (gọi là marker thông tin).

. Nếu marker có 2 đỉnh huỳnh quang tỷ lệ 1:1 thì tương ứng số lượng nhiễm sắc thể bình thường.

. Nếu marker có 3 đỉnh huỳnh quang tỷ lệ 1:1:1 thì tương ứng trisomy kiểu 3 allele.

. Nếu marker có 2 đỉnh huỳnh quang tỷ lệ 2:1 thì tương ứng trisomy kiểu 2 allele.

Trong trường hợp không đủ marker thông tin để kết luận thì thực hiện thêm phản ứng bổ sung (back-up) với các bộ marker bổ sung cho từng nhiễm sắc thể cần phân tích gồm các bộ M21, M18 và M13.

- *Xử lý số liệu*: Thực hiện bằng phần mềm SPSS version 20.0. Test Chi bình phương được sử dụng để so sánh các tỷ lệ, khi có ít nhất một tần số trong bảng tiếp liên bé hơn 5 thì test Fisher exact được sử dụng. Test Mann-Whitney U được sử dụng để so sánh các trung vị MoM của các chỉ số hóa sinh. Phân tích mối liên quan giữa tuổi mẹ, khoảng sáng sau gáy (nuchal translucency thickness), với kết quả chẩn đoán trisomy bằng biểu đồ ROC, xác định diện tích dưới đường cong ROC, tìm điểm cut-off tối ưu và độ nhạy, độ đặc hiệu tương ứng. Mức thống kê có ý nghĩa khi  $p < 0,05$ .

### 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

#### 3.1. Chẩn đoán trước sinh các trisomy 21, 18 và 13 bằng kỹ thuật QF-PCR

**Bảng 1.** Tỷ lệ trisomy 21, 18 và 13 được chẩn đoán trước sinh bằng kỹ thuật QF-PCR

| Kết quả chẩn đoán trước sinh | Số lượng   | Tỷ lệ %    |
|------------------------------|------------|------------|
| Không mắc trisomy 21, 18, 13 | 154        | 90,6       |
| Trisomy                      | 16         | 9,4        |
| - Trisomy 21                 | (11)       | (68,8)     |
| - Trisomy 18                 | (5)        | (31,2)     |
| - Trisomy 13                 | (0)        | (0)        |
| <b>Tổng</b>                  | <b>170</b> | <b>100</b> |

*Nhận xét:* Tỷ lệ các thai phụ nguy cơ cao được chẩn đoán trước sinh thai mắc trisomy là 9,4%, trong đó phần lớn là trisomy 21, chiếm 68,8% (11/16), trisomy 18 chiếm 31,2% (5/16) và không có trisomy 13.

**Bảng 2.** Phân bố các kiểu tỷ lệ đỉnh tín hiệu của các marker trong trisomy 21

| Mã số bệnh nhân | Marker chẩn đoán |          |          |          |          |
|-----------------|------------------|----------|----------|----------|----------|
|                 | D21S1442         | D21S1414 | D21S1411 | D21S1435 | D21S1446 |
| PD1943          | 1:1:1            | 1:1:1    | 2:1      | 2:1      | 1        |
| PD2005          | 1:1:1            | 1:1:1    | 1:1:1    | 2:1      | 1        |
| PD2175          | 1:1:1            | 1:1:1    | 2:1      | 1:1:1    | 1        |
| PD2183          | 1:1:1            | 1:1:1    | 1:1:1    | 2:1      | 1:1:1    |

|        |       |       |       |       |       |
|--------|-------|-------|-------|-------|-------|
| PD2201 | 1:1:1 | 2:1   | 1:1:1 | 2:1   | 2:1   |
| PD2242 | 2:1   | 1:1:1 | 2:1   | 2:1   | 2:1   |
| PD2253 | 2:1   | 1:1:1 | 2:1   | 2:1   | 2:1   |
| PD2362 | 1:1:1 | 2:1   | 2:1   | 2:1   | 2:1   |
| PD2366 | 2:1   | 1:1:1 | 1:1:1 | 2:1   | 1:1:1 |
| PD2427 | 2:1   | 1:1:1 | 2:1   | 1:1:1 | 2:1   |
| PD2455 | 1:1:1 | 1:1:1 | 2:1   | 2:1   | 1     |

*Chú thích: Marker đồng hợp tử chỉ có 1 đỉnh tín hiệu, được ký hiệu là 1.*

*Nhận xét:* Tất cả 11 trường hợp trisomy 21 đều đủ tiêu chuẩn chẩn đoán trong lần thực hiện phản ứng QF-PCR đầu tiên, không cần phải sử dụng các phản ứng bổ sung bằng các marker khác. Tất cả các trường hợp đều có ít nhất 1 marker có tỷ lệ đỉnh tín hiệu 1:1:1 (trisomy kiểu 3 allele).

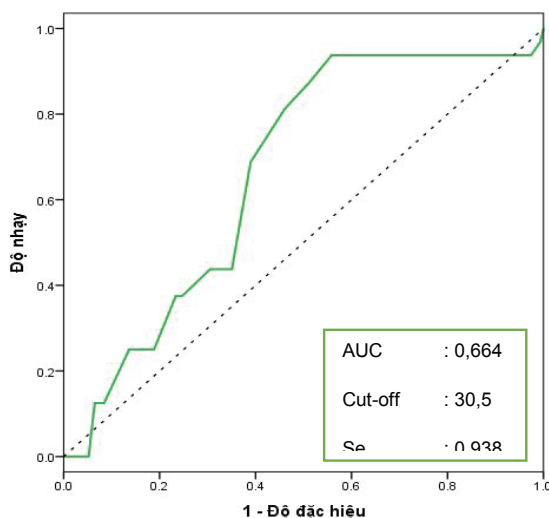
**Bảng 3.** Phân bố các kiểu tỷ lệ đỉnh tín hiệu của các marker trong trisomy 18

| Mã số bệnh nhân | Marker chẩn đoán |         |         |         |         |
|-----------------|------------------|---------|---------|---------|---------|
|                 | D18S391          | D18S390 | D18S535 | D18S976 | D18S386 |
| PD1962          | 1                | 2:1     | 1:1:1   | 1:1:1   | 2:1     |
| PD2153          | 1:1:1            | 1:1:1   | 2:1     | 1       | 1:1:1   |
| PD2174          | 2:1              | 2:1     | 2:1     | 1:1:1   | 2:1     |
| PD2245          | 1                | 2:1     | 2:1     | 1       | 2:1     |
| PD2425          | 1                | 2:1     | 2:1     | 2:1     | 1:1:1   |

*Nhận xét:* Tất cả 5 trường hợp trisomy 18 đều đủ tiêu chuẩn chẩn đoán trong lần thực hiện phản ứng QF-PCR đầu tiên. 4 trường hợp (chiếm 80%) có ít nhất 1 marker có tỷ lệ đỉnh tín hiệu 1:1:1 (trisomy kiểu 3 allele).

### 3.2. Mối liên quan của trisomy được chẩn đoán trước sinh với một số đặc điểm của mẹ và thai nhi

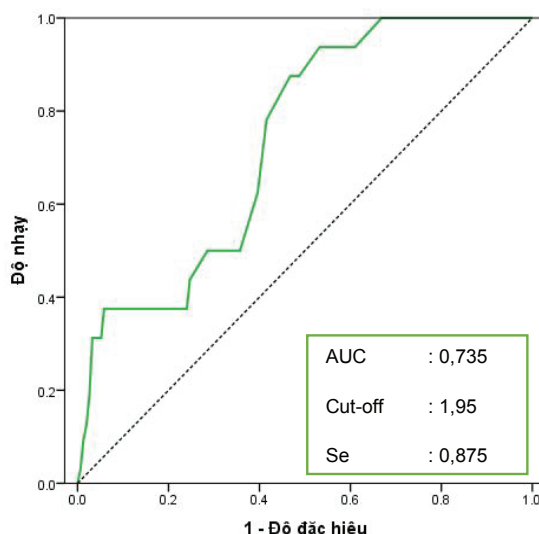
#### 3.2.1. Mối liên quan với tuổi mẹ



**Biểu đồ 1.** Đường cong ROC thể hiện dương tính thật và dương tính giả của tuổi mẹ trong phát hiện các trường hợp bất thường nhiễm sắc thể

*Nhận xét:* Tuổi mẹ có giá trị trong sàng lọc thai nhi mắc trisomy trong quý I thai kỳ ( $p = 0,032$ ) với độ nhạy là 93,8% ở ngưỡng tối ưu là 30,5 tuổi.

### 3.2.2. Mối liên quan với khoảng sáng sau gáy đo được khi siêu âm



**Biểu đồ 2.** Đường cong ROC thể hiện dương tính thật và dương tính giả của khoảng sáng sau gáy trong phát hiện các trường hợp bất thường nhiễm sắc thể

**Nhận xét:** Khoảng sáng sau gáy đo được khi siêu âm thai từ 11 tuần đến 13 tuần 6 ngày có giá trị trong sàng lọc thai nhi trisomy với độ nhạy 87,5% ở ngưỡng cut-off tối ưu là 1,95 mm.

### 3.2.3. Mối liên quan với giá trị trung vị MoM của $\beta$ -hCG tự do huyết thanh mẹ

**Bảng 4.** So sánh giá trị trung vị MoM  $\beta$ -hCG tự do huyết thanh mẹ giữa các nhóm nghiên cứu

| Kết quả QF-PCR    | Số lượng | Trung vị MoM | Độ lệch chuẩn (SD) | Kiểm định Mann-Whitney U |         |                   |
|-------------------|----------|--------------|--------------------|--------------------------|---------|-------------------|
|                   |          |              |                    | n                        | Z       | p                 |
| Chỉ có trisomy 21 | 11       | 4,35         | 1,81               | 165                      | - 2,316 | <b>0,021</b>      |
| Chỉ có trisomy 18 | 5        | 0,13         | 0,04               | 159                      | - 3,8   | <b>&lt; 0,001</b> |
| Không bất thường  | 154      | 2,28         | 1,79               |                          |         |                   |

**Nhận xét:** Trung vị MoM của  $\beta$ -hCG tự do huyết thanh mẹ ở nhóm trisomy 21 cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm không bất thường nhiễm sắc thể, trong khi đó chỉ số này ở nhóm trisomy 18 thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm không bất thường nhiễm sắc thể.

### 3.2.4. Mối liên quan với giá trị trung vị MoM của PAPP-A huyết thanh mẹ

**Bảng 5.** So sánh giá trị trung vị MoM của PAPP-A huyết thanh mẹ giữa các nhóm nghiên cứu

| Kết quả QF-PCR    | Số lượng | Trung vị MoM | Độ lệch chuẩn (SD) | Kiểm định Mann-Whitney U |         |              |
|-------------------|----------|--------------|--------------------|--------------------------|---------|--------------|
|                   |          |              |                    | n                        | Z       | p            |
| Chỉ có trisomy 21 | 11       | 0,35         | 0,60               | 165                      | - 0,516 | 0,606        |
| Chỉ có trisomy 18 | 5        | 0,14         | 0,14               | 159                      | - 2,847 | <b>0,004</b> |
| Không bất thường  | 154      | 0,54         | 0,49               |                          |         |              |

**Nhận xét:** Trung vị MoM của PAPP-A huyết thanh mẹ ở nhóm trisomy 18 thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm không bất thường nhiễm sắc thể.

## 4. BÀN LUẬN

Nghiên cứu này được thực hiện trên 170 thai phụ đã được sàng lọc quý I với kết quả thai có nguy cơ cao trisomy 21, 18, 13. Các chỉ số sàng lọc bao gồm

tuổi mẹ,  $\beta$ -hCG tự do và PAPP-A huyết thanh mẹ, khoảng sáng sau gáy (nuchal translucency thickness) đo được khi siêu âm thai. Chúng tôi đã thực hiện kỹ thuật QF-PCR, một kỹ thuật sinh học phân tử được



lựa chọn hàng đầu trong chẩn đoán trước sinh các bất thường số lượng nhiễm sắc thể thường gặp.

#### 4.1. Chẩn đoán trước sinh các trisomy 21, 18 và 13 bằng kỹ thuật QF-PCR

Kết quả ở bảng 1 cho thấy có 16 trường hợp trisomy, chiếm tỷ lệ 9,4%. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Rozenberg năm 2006 (13,9%; n = 375) [18], Wojdemann năm 2005 (9,6%; n = 125) [21], Hoàng Trọng Nam năm 2012 (11,6%; n = 69) [3] và một nghiên cứu trước đây của chúng tôi năm 2013 (9,0%; n = 78) [1],  $p > 0,05$ .

Một nghiên cứu khác của Đỗ Thị Thanh Thủy tiến hành vào năm 2009 ở bệnh viện Từ Dũ – thành phố Hồ Chí Minh cho thấy tỷ lệ bất thường số lượng nhiễm sắc thể 21, 18, 13 trong số các thai phụ có nguy cơ cao mang thai trisomy tham gia chẩn đoán trước sinh chỉ có 3,4% (n=324) [5]. Kết quả trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn có ý nghĩa thống kê với tác giả này ( $p < 0,05$ ). Sở dĩ trong nghiên cứu của Đỗ Thị Thanh Thủy tỷ lệ các bất thường nhiễm sắc thể này thấp, chỉ 3,4% vì tác giả đã lựa chọn ngưỡng nguy cơ là 1/400 để sàng lọc cả 3 loại bất thường: trisomy 21, trisomy 18, trisomy 13 trong khi phần lớn chương trình sàng lọc và chẩn đoán trước sinh trên thế giới sử dụng ngưỡng nguy cơ trong khoảng 1/250-1/300 đối với sàng lọc trisomy 21 và trong khoảng 1/150 – 1/200 đối với sàng lọc trisomy 18, trisomy 13. Nghiên cứu của chúng tôi sử dụng các ngưỡng nguy cơ tương tự trên thế giới. Lựa chọn ngưỡng nguy cơ cao khi sàng lọc có ý nghĩa rất quan trọng trong chẩn đoán trước sinh vì ảnh hưởng đến tỷ lệ bà mẹ phải tiến hành chọc ối không cần thiết cũng như tỷ lệ bỏ sót trường hợp bất thường.

Trong số 16 trường hợp thai nhi được chẩn đoán bất thường số lượng nhiễm sắc thể 21, 18 và 13 bằng kỹ thuật QF-PCR của nghiên cứu này, có 11 trường hợp trisomy 21 chiếm tỷ lệ cao nhất (68,8%), 5 trường hợp trisomy 18 (31,2%) và không có trường hợp nào mắc trisomy 13. Nghiên cứu của Wojdemann trên 125 trường hợp cũng không phát hiện trường hợp trisomy 13 nào [21]. Những nghiên cứu khác có phát hiện trisomy 13 tuy nhiên với tỷ lệ rất thấp như nghiên cứu của Đỗ Thị Thanh Thủy có 3 trường hợp [5] và nghiên cứu của Rozenberg có 4 trường hợp trisomy 13 [18]. Trên thực tế, trisomy 13 chiếm tỷ lệ rất thấp trong số những trẻ sinh sống, chỉ 1/5000 -1/10.000. Các thai trisomy 13 cũng có tỷ lệ sảy cao hơn trisomy 18 và trisomy 21 nên số thai trisomy 13 ở tuần thai thứ 16 trở đi cũng thấp hơn so với trisomy 18 và đặc biệt là so với trisomy 21. Nghiên cứu của chúng tôi phát hiện 16 trường hợp trisomy với đa số là trisomy 21 và không có trường hợp trisomy 13 nào cũng phù hợp.

Trong bảng 2 và 3, chúng tôi đã trình bày các kiểu tỷ lệ đỉnh tín hiệu thu được khi phân tích đoạn (fragment analysis) bằng điện di mao quản của tất cả 16 trường hợp trisomy được chẩn đoán trước sinh, bao gồm 11 trường hợp trisomy 21 và 5 trường hợp trisomy 18. Kết quả cho thấy đa số các trường hợp (100% trisomy 21 và 80% trisomy 18) đều có ít nhất một marker mang kiểu 3 đỉnh tín hiệu với tỷ lệ 1:1:1, như vậy có thể khẳng định các trường hợp này đều là trisomy kiểu 3 allele. Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với cơ chế chính gây ra lệch bội là do hiện tượng rối loạn không phân ly nhiễm sắc thể mà chủ yếu là trong giảm phân I của quá trình tạo trứng. Ngoài ra, kết quả các kiểu tỷ lệ đỉnh tín hiệu cũng cho thấy tất cả các trường hợp (100%) đã được chẩn đoán có đủ thông tin kết luận trisomy trong lần phân tích đầu tiên với bộ phản ứng S1 và S2 mà không cần phải thực hiện phản ứng bổ sung (M21, M18). Điều này chứng tỏ các marker được lựa chọn trong bộ kit chẩn đoán trước sinh Aneufast rất đặc hiệu, kết quả chẩn đoán trước sinh với bộ kit này đã được Grimshaw công bố có độ nhạy và độ đặc hiệu rất cao, lần lượt là 95,65% và 99,97% [11].

Trong một phân tích tổng quan của Nicolini, tác giả đã trích dẫn một số nghiên cứu trước đây về chẩn đoán lệch bội bằng kỹ thuật QF-PCR cho thấy: Verma (1998) khi phân tích 2139 trường hợp sử dụng 2-3 marker để chẩn đoán trisomy 21 thì phát hiện 32/33 trường hợp; Pertl (1999) khi phân tích 247 trường hợp sử dụng 3 marker để chẩn đoán trisomy 18 thì phát hiện 4/5 trường hợp. Như vậy, nếu chỉ sử dụng 2-3 marker thì chưa thể phát hiện được tất cả các trường hợp trisomy 21 và 18. Trong các nghiên cứu của Mann (2003) và Quaife (2004) khi sử dụng 4 marker để chẩn đoán lệch bội thì không có trường hợp nào chẩn đoán sai [17]. Nghiên cứu của Vũ Thị Huyền [2] khi sử dụng cả 5/5 marker và của Nguyễn Hoài Nam [4] sử dụng 4/5 marker tương tự nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ có đủ thông tin chẩn đoán không cần thực hiện phản ứng bổ sung (back-up) là 100%.

#### 4.2. Mối liên quan của trisomy ở thai nhi với một số chỉ điểm nghiên cứu

Từ các biểu đồ 1 và 2, chúng tôi nhận thấy có sự liên quan của các trisomy được chẩn đoán với tuổi mẹ ( $p = 0,032$ ) và khoảng sáng sau gáy ( $p = 0,002$ ). Dựa vào các giá trị của độ nhạy và độ đặc hiệu tương ứng với các chỉ số tuổi mẹ và khoảng sáng sau gáy, chúng tôi đã xác định được điểm cut-off tối ưu của tuổi mẹ là 30,5 tuổi (độ nhạy tương ứng là 93,8%), của khoảng sáng sau gáy là 1,95 mm (độ nhạy tương ứng là 87,5%). Các kết quả này phù hợp với giá trị sàng lọc quý I các thai nhi mắc trisomy của các chỉ số

tuổi mẹ và khoảng sáng sau gáy. Tuy nhiên, diện tích dưới đường cong ROC tương ứng của hai yếu tố này lần lượt chỉ 0,664 và 0,735, nên khi sử dụng đơn độc từng yếu tố sẽ có giá trị không cao. Điều này cũng phù hợp với các ý kiến, việc chỉ sử dụng một yếu tố sàng lọc thì tỷ lệ phát hiện thấp và tỷ lệ dương tính giả cao, do đó chúng ta cần phối hợp các test sàng lọc với nhau để tăng tỷ lệ phát hiện các trường hợp thai phụ nguy cơ cao và giảm dương tính giả, hạn chế các trường hợp phải chọc ối để làm chẩn đoán trước sinh không cần thiết.

Theo Nicolaides, giá trị trung vị MoM  $\beta$ -hCG tự do trong máu mẹ ở nhóm thai nhi được chẩn đoán trisomy 21 cao hơn nhóm thai nhi có bộ nhiễm sắc thể bình thường [15]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với kết luận trên: trung vị MoM của  $\beta$ -hCG tự do ở nhóm trisomy 21 là 4,35 cao hơn giá trị trung vị MoM của  $\beta$ -hCG tự do ở nhóm bình thường 2,35, với  $p < 0,05$ . So sánh với kết quả nghiên cứu của một số tác giả khác, kết quả chúng tôi có phần cao hơn: Kagan [12] giá trị trung vị này là 2, Spencer [19] là 2,15, Canick [8] giá trị này là 1,8 ở nhóm mang thai trisomy 21.

Ngược lại, trong các thai nhi được chẩn đoán trisomy 18, giá trị trung vị MoM  $\beta$ -hCG tự do trong máu mẹ giảm [15]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, giá trị trung vị MoM  $\beta$ -hCG tự do trong nhóm trisomy 18 là 0,13, thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với giá trị trung vị MoM ở nhóm bình thường. Kết quả này phù hợp với kết quả của Karl O. Kagan và cs [12], Natasha Tul và cs [20], Roberto Biagiotti và cs [6]: nồng độ  $\beta$ -hCG tự do của bà mẹ mang thai trisomy 18 đều giảm, lần lượt là 0,281; 0,2 và 0,34.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, trung vị MoM của PAPP-A huyết thanh ở nhóm bà mẹ mang thai trisomy 21 và trisomy 18 lần lượt là 0,35 và 0,14, tuy nhiên khi so sánh với trung vị MoM của nhóm bình thường (0,54) thì sự khác biệt chỉ có ý nghĩa thống kê ở nhóm trisomy 18. Kết quả của chúng tôi cũng phù hợp với một số tác giả khác như nghiên cứu của

Brambati (1994) có trung vị MoM PAPP-A ở nhóm bà mẹ mang thai trisomy 21 là 0,31 [7], nghiên cứu của Christiansen có giá trị này là 0,30 [9], và nghiên cứu của Canick là 0,40 [8]. Tác giả Nicolaides [16] ghi nhận giá trị MoM của PAPP-A ở các thai kỳ trisomy 21 vào thời điểm thai 12 tuần là thấp hơn 0,5. Ở nhóm bà mẹ mang thai trisomy 18, kết quả trung vị MoM của PAPP-A trong nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự với các nghiên cứu khác: nghiên cứu của Karl O. Kagan [12] giá trị này là 0,2; của Natasha Tul [20] là 0,177.

## 5. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 170 bà mẹ mang thai nguy cơ cao được thực hiện xét nghiệm QF-PCR để chẩn đoán trước sinh các trisomy 21, 18 và 13 tại Trung tâm sàng lọc – chẩn đoán trước sinh và sơ sinh bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế, chúng tôi rút ra các kết luận sau:

### 5.1. Tỷ lệ các trisomy được chẩn đoán trước sinh bằng kỹ thuật QF-PCR

- Tỷ lệ bà mẹ mang thai nguy cơ cao được chẩn đoán trước sinh thai mắc trisomy 21, 18 và 13 bằng kỹ thuật QF-PCR là 9,4%; trong đó, thai trisomy 21 chiếm tỷ lệ 68,8%, trisomy 18 chiếm 31,2%, không phát hiện trường hợp thai trisomy 13.

- 100% trisomy 21 và 80% trisomy 18 thuộc nhóm trisomy kiểu 3 allele.

### 5.2. Mối liên quan của các trisomy với đặc điểm của mẹ và thai

- Có mối liên quan giữa các trisomy được chẩn đoán với tuổi mẹ (ngưỡng tối ưu 30,5 tuổi) và khoảng sáng sau gáy (ngưỡng tối ưu 1,95 mm).

- Giá trị trung vị MoM của  $\beta$ -hCG tự do huyết thanh tăng ở nhóm bà mẹ mang thai trisomy 21 (4,35) và giảm ở nhóm bà mẹ mang thai trisomy 18 (0,13) so với nhóm không mắc trisomy (2,28). Giá trị trung vị MoM của PAPP-A huyết thanh giảm ở nhóm bà mẹ mang thai trisomy 18 (0,14) so với nhóm không trisomy (0,54).

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đoàn Hữu Nhật Bình, Lê Tuấn Linh, Nguyễn Viết Nhân, Hà Thị Minh Thi, Đoàn Thị Duyên Anh, Lê Phan Tường Quỳnh (2013), “Nghiên cứu sàng lọc và chẩn đoán các bất thường số lượng Nhiễm sắc thể 21, 18, 13 của thai nhi tại miền Trung Việt Nam”, *Tạp chí Y dược Học trường Đại học Y dược Huế*, 3 (13), tr.14-19.

2. Vũ Thị Huyền (2012), Áp dụng kỹ thuật QF-PCR để chẩn đoán trước sinh hội chứng Down, Luận văn Bác sỹ

nội trú, Trường Đại học Y Hà Nội.

3. Hoàng Trọng Nam (2012), Đánh giá kết quả sàng lọc trước sinh tuổi thai từ 11 tuần - 13 tuần 6 ngày dựa trên độ mờ da gáy, beta hCG tự do và PAPP-A, Luận văn Thạc sỹ Y học, Trường Đại học Y dược Huế.

4. Nguyễn Hoài Nam (2011), *Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật QF-PCR trong chẩn đoán trước sinh một số hội chứng lệch bội Nhiễm sắc thể*, Luận văn Thạc sỹ y học,

Trường Đại học Y Hà Nội.

5. Đỗ Thị Thanh Thủy, Bùi Thị Hồng Nga, Hà Tố Nguyên (2009), "Nghiên cứu ứng dụng test phối hợp (combined test) trong tầm soát trước sinh ba tháng đầu thai kỳ", *Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh*, 13 (1), tr.190 - 197.

6. Biagiotti, R., Cariati, E., Brizzi, L., Cappelli, G., D'Agata, A. (1998), "Maternal serum screening for trisomy 18 in the first trimester of pregnancy", *Prenatal diagnosis*, 18 (9), pp.907-913.

7. Brambati, B., Tului, L., Bonacchi, I., Shrimanker, K., Suzuki, Y., Grudzinskas, J. (1994), "Serum PAPP-A and free  $\beta$ -hCG are first-trimester screening markers for down syndrome", *Prenatal diagnosis*, 14 (11), pp.1043-1047.

8. Canick, J.A., Kellner, L.H. (1999), "First trimester screening for aneuploidy: serum biochemical markers," in *Seminars in perinatology*, pp. 359-368.

9. Christiansen, M., Jaliashvili, I. (2003), "Total pregnancy-associated plasma protein A—a first trimester maternal serum marker for Down's syndrome: clinical and technical assessment of a poly-monoclonal enzyme immunoassay", *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*, 63 (6), pp.407-416.

10. Faas, B.H., Cirigliano, V. (2011), "Rapid methods for targeted prenatal diagnosis of common chromosome aneuploidies," in *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, pp. 81-87.

11. Grimshaw, G., Szczepura, A., Hulten, M., MacDonald, F., Nevin, N., Sutton, F., et al. (2003), "Evaluation of molecular tests for prenatal diagnosis of chromosome abnormalities", *Health technol assess*, 7 (10), pp.1-146.

12. Kagan, K.O., Wright, D., Valencia, C., Maiz, N., Nicolaides, K.H. (2008), "Screening for trisomies 21, 18 and 13 by maternal age, fetal nuchal translucency, fetal heart rate, free  $\beta$ -hCG and pregnancy-associated plasma protein-A", *Human reproduction*, 23 (9), pp.1968-1975.

13. Mansfield, E.S. (1993), "Diagnosis of Down syndrome and other aneuploidies using quantitative polymerase chain reaction and small tandem repeat

polymorphisms", *Human Molecular Genetics*, 2 (1), pp.43-50.

14. Moftah, R., Marzouk, S., El-Kaffash, D., Varon, R., Bommer, C., Karbasiyan, M., et al. (2013), "QF-PCR as a molecular-based method for autosomal aneuploidies detection", *Advances in Reproductive Sciences*, 1 (03), pp.21.

15. Nicolaides, K.H. (2011), "Screening for fetal aneuploidies at 11 to 13 weeks", *Prenatal diagnosis*, 31 (1), pp.7-15.

16. Nicolaides, K.H. (2004), *The 11-13<sup>+</sup> weeks scan*, London.

17. Nicolini, U., Lalatta, F., Natacci, F., Curcio, C., Bui, T.-H. (2004), "The introduction of QF-PCR in prenatal diagnosis of fetal aneuploidies: time for reconsideration", *Human reproduction update*, 10 (6), pp.541-548.

18. Rozenberg, P., Bussi res, L., Chevreton, S., Bernard, J.P., Malagrida, L., Cuckle, H., et al. (2006), "Screening for Down syndrome using first-trimester combined screening followed by second-trimester ultrasound examination in an unselected population", *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 195 (5), pp.1379-1387.

19. Spencer, K., Souter, V., Tul, N., Snijders, R., Nicolaides, K. (1999), "A screening program for trisomy 21 at 10–14 weeks using fetal nuchal translucency, maternal serum free  $\beta$ -human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A", *Ultrasound in obstetrics & gynecology*, 13 (4), pp.231-237.

20. Tul, N., Spencer, K., Noble, P., Chan, C., Nicolaides, K. (1999), "Screening for trisomy 18 by fetal nuchal translucency and maternal serum free  $\beta$ -hCG and PAPP-A at 10–14 weeks of gestation", *Prenatal diagnosis*, 19 (11), pp.1035-1042.

21. Wojdemann, K., Shalmi, A., Christiansen, M., Larsen, S., Sundberg, K., Brocks, V., et al. (2005), "Improved first-trimester Down syndrome screening performance by lowering the false-positive rate: a prospective study of 9941 low-risk women", *Ultrasound in obstetrics & gynecology*, 25 (3), pp.227-233.