

ỨNG DỤNG NIPS VÀO TẦM SOÁT LỆCH BỘI NHIỄM SẮC THỂ TRONG SONG THAI

ThS. BS. Võ Thị Huệ¹, ThS. BS. Phạm Công Toàn²

¹Đại học Nguyễn Tất Thành; ²Đại học Quốc Gia TP. Hồ Chí Minh

TÓM TẮT

Tầm soát trước sinh bằng các xét nghiệm sàng lọc có độ nhạy, độ đặc hiệu cao là giai đoạn quan trọng trong quá trình khám thai, nhằm phát hiện sớm những thai kỳ nguy cơ cao tồn tại các bất thường nhiễm sắc thể, giúp giảm tỷ lệ can thiệp và biến chứng. Tuy nhiên, các xét nghiệm sàng lọc trước sinh dựa vào các dấu chỉ sinh hóa ở song thai chưa đạt được hiệu quả cao, đồng thời tỷ lệ hỗ trợ sinh sản và thai kỳ song thai đang ngày càng tăng cao. Do đó, việc tìm ra một xét nghiệm sàng lọc trước sinh có giá trị cao thay thế cho phương pháp cổ điển là rất cần thiết. NIPS ra đời và đang ngày càng chứng minh được hiệu quả cao trong tầm soát lệch bội ở cả đơn thai và song thai.

Từ khóa: NIPS, cell-free DNA, song thai, tầm soát trước sinh

NIPS LÀ GÌ?

Những bất thường nhiễm sắc thể ở thai có thể bắt đầu bằng cách thêm hoặc mất vật chất di truyền với kích thước từ nhỏ (như vi mất đoạn, vi lặp đoạn) đến toàn bộ nhiễm sắc thể (như lệch bội) gây ra các bất thường thai từ mức độ nhẹ đến nghiêm trọng. Vì vậy, tầm soát trước sinh không xâm lấn (non – invasive prenatal screening – NIPS) ngày càng phổ biến, từng bước thay thế những phương pháp cổ điển trong sàng lọc các bất

thường nhiễm sắc thể, góp phần giảm tỷ lệ cần thực hiện xét nghiệm chẩn đoán.

NIPS dựa vào các mảnh vỡ DNA ngắn, gọi là “cell-free DNA”(cfDNA), sinh ra từ quá trình chết theo chương trình của tế bào, được phóng thích vào tuần hoàn mẹ và nhanh chóng được thanh thải. Ở phụ nữ mang thai, cfDNA hầu hết có nguồn gốc từ tế bào mẹ, tuy nhiên, tỷ lệ nhỏ cfDNA xuất phát từ lớp nguyên bào nuôi ngoài gai nhau, được gọi là “cell-free fetal DNA”(cffDNA), phản ánh đặc điểm vật chất di truyền của thai. Tỷ lệ cffDNA trên toàn bộ cfDNA tính theo phần trăm được gọi là “fetal fraction”(FF). Tại 10 tuần, FF có giá trị trung vị là 10%. Từ 10 đến 21 tuần, FF giữ tương đối ổn định và chỉ tăng khoảng 0,1% mỗi tuần. Sau 21 tuần, tỷ lệ này tăng nhanh khoảng 1% mỗi tuần^[1,2].

Các xét nghiệm NIPS khác nhau về kỹ thuật và thuật toán nhằm kiểm tra tỷ lệ cfDNA xuất phát từ những nhiễm sắc thể đặc biệt. Tình trạng lệch bội ở thai làm sai lệch tỷ lệ này so với giá trị mong đợi và một kiểm định thống kê được sử dụng để xác định ý nghĩa của sự sai lệch này^[3]. Phần lớn cfDNA có nguồn gốc từ mẹ nên khả năng phát hiện bất thường nhiễm sắc thể thai đòi hỏi FF phải đủ cao, nên các thuật toán NIPS đều yêu cầu giá trị FF phải lớn hơn 1 ngưỡng cut – off (thường là 4%), ngược lại NIPS sẽ không có kết quả. Giá trị của NIPS trong tầm soát lệch

bộ nhiễm sắc thể ở đơn thai đã được chứng minh trong nhiều nghiên cứu, nhưng những ứng dụng của NIPS trong song thai vẫn đang tiếp tục được chứng minh.

BẤT LỢI CỦA NIPS

NIPS không bao giờ đạt giá trị tiên đoán dương 100%, nên NIPS chỉ là một xét nghiệm sàng lọc^[3]. Kết quả NIPS nguy cơ cao cần thực hiện xét nghiệm xâm lấn để chẩn đoán chắc chắn về kiểu gen của thai. Đồng thời, kết quả NIPS nguy cơ thấp không đủ khả năng loại trừ hoàn toàn tất cả những bất thường nhiễm sắc thể của thai, đặc biệt với những bệnh nhân có yếu tố nguy cơ rất cao. NIPS có thể âm tính giả hoặc dương tính giả trong một số trường hợp như:

- Giá trị FF thấp tạo kết quả âm tính giả.
- Song thai với một thai tiêu biến mà bánh nhau của thai tiêu biến còn tồn tại và tiếp tục giải phóng cfDNA gây dương tính giả.
- Bất thường nhiễm sắc thể của mẹ (như mang thể khảm lệch bội), mẹ ghép tạng hoặc ghép tủy xương có thể tạo nên kết quả dương tính giả.
- Sự khác biệt về vật chất di truyền của thai và nguyên bào nuôi hoặc thể khảm bánh nhau (1 – 2% ở tam cá nguyệt thứ 1) hay thể khảm thai có thể gây dương tính giả hoặc âm tính giả.
- Một số báo cáo ghi nhận những bệnh lý ác tính của mẹ như lymphoma tế bào B, u tế bào T hay U lympho không Hodgkin gây sai lệch kết quả NIPS. Vì vậy, khi kết quả tầm soát lệch bội xuất hiện tại nhiều nhiễm sắc thể sẽ gợi ý bệnh lý ác tính tiềm ẩn của mẹ, nên cần thăm khám toàn diện, chụp nhũ ảnh, xét nghiệm công thức máu, nước tiểu, tìm máu ẩn trong phân cho thai phụ...^[4].
- NIPS có thể không phát hiện được các trường hợp bất thường nhiễm sắc thể hiếm gặp như “khảm tam nhiễm sắc thể”.

Khoảng 1,6 – 6,4% các mẫu NIPS cho ra kết quả không giải thích được^[5,6]. Nguyên nhân nguyên phát của NIPS thất bại là FF thấp. Nhiều nghiên cứu nhận thấy cân nặng mẹ tương quan ngược với FF, do sự chết theo chương trình của tế bào mỡ làm tăng cao cfDNA mẹ. Bệnh nhân điều trị với heparin trọng lượng phân tử thấp cũng làm tăng nguy cơ NIPS thất bại^[7].

FF có vẻ thấp hơn khi thai tồn tại một số bất thường nhiễm sắc thể như trisomy 13, 18, XO và tam bội. Do đó, nguy cơ bất thường nhiễm sắc thể tăng với một mẫu NIPS thất bại do FF thấp. Đối diện với một trường hợp NIPS thất bại, tiếp cận nên tùy thuộc bối cảnh lâm sàng. Những thai phụ có kết quả combine test nguy cơ cao và những dấu hiệu siêu âm nghi ngờ, xét nghiệm xâm lấn nên được thực hiện. Đối với thai phụ có yếu tố nền tảng nguy cơ thấp, tuần thai nhỏ, lặp lại NIPS khi thai đủ lớn (hơn 20 tuần) có thể được chấp nhận^[8]. Tuy nhiên, việc lặp lại NIPS có thể làm chậm trễ chẩn đoán lệch bội và dẫn đến thay đổi phương pháp chấm dứt thai kỳ^[9].

TẦM SOÁT LỆCH BỘI Ở SONG THAI TRONG GIAI ĐOẠN HIỆN TẠI

Bất thường nhiễm sắc thể phổ biến nhất là tam nhiễm sắc thể 21 (trisomy 21), gây hội chứng Down. Những lệch bội khác ở thai thường gây sẩy thai tự nhiên, nhưng đôi khi vẫn ghi nhận các thai kỳ sinh sống (đặc biệt ở lệch bội nhiễm sắc thể 13, 18 và giới tính).

Nguy cơ lệch bội của các thai kỳ song thai tùy vào số lượng hợp tử, số lượng bánh nhau, tuy nhiên dữ liệu về lệch bội ở đa thai vẫn còn nhiều hạn chế. Trong song thai 2 trứng (chiếm khoảng 2/3 song thai), mỗi thai có nguy cơ lệch bội tương ứng với nguy cơ theo tuổi mẹ. Nhưng cần chú ý rằng nguy cơ mẹ

mang ít nhất 1 thai lệch bội trong song thai cao hơn so với đơn thai. Hầu hết song thai cùng trứng (chiếm 1/3 song thai) sẽ có cùng karyotype, nên không thai nào hoặc cả 2 thai lệch bội và nguy cơ mang lệch bội sẽ tương ứng với nguy cơ theo tuổi mẹ. Trong một số trường hợp hiếm, đột biến hoặc sự không phân ly nhiễm sắc thể trong quá trình nguyên phân sẽ tạo nên sự khác biệt về đặc điểm di truyền của 2 thai^[10].

Hiện tại chưa có phương pháp nào tầm soát lệch bội trong song thai chính xác như trong đơn thai. Những phương thức tầm soát như độ mờ da gáy (Nuchal translucency – NT), double test, combine test, quadruple test (hCG, AFP, uE3, DIA ở thai 15 – 22 tuần) có thể là những lựa chọn phù hợp cho song thai^[11]. Trong trường hợp song thai, một thai lưu hoặc một thai bất thường cấu trúc, tầm soát lệch bội bằng huyết thanh không nên sử dụng vì nguy cơ cao sai lệch. Thai phụ nên được tư vấn và cân nhắc thực hiện xét nghiệm chẩn đoán^[9]. Độ mờ da gáy cho phép mỗi thai được tầm soát độc lập và do đó có thể sử dụng trong đa thai. Sự phân bố của độ mờ da gáy không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa giữa song thai và đơn thai. Do đó, đo NT kết hợp tuổi mẹ là phương pháp tầm soát được chấp nhận với song thai^[11].

Tuy nhiên, số nhau và số hợp tử có thể ảnh hưởng đến nguy cơ ước tính hội chứng Down trong song thai. Nguy cơ tính toán

được có thể cho mỗi một thai (fet) hoặc chung cho cả thai kỳ (preg). Trong song thai một nhau (monochorionic), nguy cơ toàn bộ giống với đơn thai. Tuy nhiên, giá trị NT tăng thường gặp hơn ở song thai một nhau so với hai nhau (dichorionic) (do các biến chứng đặc hiệu xuất hiện song thai ở một nhau)^[12]. Theo nghiên cứu của Vandecruys và cộng sự (2005) trên 769 thai kỳ song thai một nhau, phương pháp tầm soát tốt nhất là sử dụng giá trị NT trung bình của hai thai hơn là giá trị NT cao nhất hay NT thấp nhất. Trong song thai hai nhau, tỷ lệ hai hợp tử chiếm 90% (giá trị này có thể thay đổi với thai kỳ được hỗ trợ sinh sản). Trong song thai hai nhau, hai thai tách biệt, nguy cơ cho mỗi thai được tính toán bằng cách sử dụng giá trị NT trung vị trong đơn thai. Tuy nhiên, 10% song thai hai nhau thật ra là một hợp tử, điều này làm tăng tỷ lệ dương giả ở nhóm song thai hai nhau một hợp tử^[13]. (Bảng 1)

Tầm soát bằng huyết thanh kết hợp với độ mờ da gáy và tuổi mẹ có thể được cân nhắc với song thai, giúp giảm tỷ lệ dương tính giả so với phương pháp tầm soát bằng độ mờ da gáy và tuổi mẹ^[11]. Năm 2003, Spencer kiểm định tác động của số nhau lên huyết thanh mẹ trong 3 tháng đầu trên 1.914 cặp song thai. Tác giả kết luận rằng tầm soát trong tam cá nguyệt thứ nhất đòi hỏi hệ số điều chỉnh theo MoM (multiple of median) ở song thai, chia 2.023 với free-beta HCG, với PAPP-A

Bảng 1. Tầm soát trisomy 21 bằng NT kết hợp tuổi mẹ.

Tài liệu tham khảo	Cut – off	Tri 21/Tổng song thai	Độ nhạy (%)	Tỷ lệ dương giả (%)
Chasen, 2007	1/130	7/535	83	5,0
Vandecruys, 2005	1/300	6/769 MC	100	4,2 (NT trung bình)
Spencer, 2003	1/300	4/230	75	6,8 (fet) 9,2 (preg)
Sebire, 1996	1/300	8/448	88	5,0 (fet), 10 (preg) – DC 13 (preg) – MC

chia 2.192 cho song thai hai nhau và 1.788 cho song thai một nhau. Wald (2015) tiến hành nghiên cứu kết hợp NT và huyết thanh mẹ trong sàng lọc tam cá nguyệt thứ 1, lấy chỉ số huyết thanh trung vị bằng cách thống kê nồng độ các chỉ số này ở các song thai không bị lệch bội và thực hiện các phép tính như ở đơn thai. Tác giả kết luận rằng kết hợp NT và sinh hóa trong tam cá nguyệt thứ 1 có thể cho độ nhạy cao tương tự trong đơn thai.

GIÁ TRỊ CỦA NIPS TRONG TẦM SOÁT LỆCH BỘI Ở SONG THAI

Trong song thai một nhau, hai thai xuất phát từ một hợp tử và giống nhau về bộ máy di truyền, tạo ra những đoạn alen trên cfDNA giống hệt nhau trong tuần hoàn mẹ. Như vậy, phân tích cfDNA để đánh giá nguy cơ lệch bội có thể thực hiện bằng phương thức giống như ở đơn thai.

Năm 2013, Leung sử dụng kỹ thuật giải trình tự “ultra – deep” các cfDNA từ huyết tương mẹ ở song thai hai hợp tử ghi nhận mỗi thai có thể đóng góp một lượng cfDNA khác nhau vào tuần hoàn mẹ, sự khác biệt này có thể lên đến 2 lần^[14]. Do đó, xảy ra tình huống song thai hai hợp tử có một thai lệch bội và thai này tạo ra FF dưới ngưỡng 4%, đưa đến âm tính giả trong kết quả tầm soát bằng cfDNA do sự hiện diện vượt trội của cfDNA từ thai bình thường.

Năm 2014, Craig và cộng sự đề xuất kỹ thuật DANSR (giải trình tự nhiễm sắc thể chọn lọc với phân tích số những vùng chọn lọc) giúp ước tính những thay đổi trong tỷ lệ

vật chất di truyền ở mẫu lệch bội. Tiếp cận này làm tăng tỷ lệ kết quả “no – call” vì FF < 4%, nhưng cũng giúp giảm tỷ lệ âm tính giả^[15]. Tỷ lệ thất bại theo công bố năm 2019 của nhóm tác giả này là 4,9% ở song thai một nhau và 11,3% ở song thai hai nhau. Từ năm 2012 đến 2021, Juah và cộng sự thực hiện nghiên cứu tiến cứu trên 1.272 song thai ứng dụng kỹ thuật DANSR, ghi nhận ứng dụng cfDNA vào tầm soát trisomy 21, trisomy 18, trisomy 13 đạt độ nhạy và tỷ lệ dương giả lần lượt là 95% (19/20 trường hợp) và 0,05%; 90% (9/10 trường hợp) và 0,1%; 50% (1/2 trường hợp) và 0,4%^[16]. Nhóm tác giả cũng tiến hành phân tích gộp dữ liệu của mình với 12 nghiên cứu tiến cứu được công bố từ năm 2013 đến 2021, kết quả ghi nhận độ nhạy và tỷ lệ dương tính giả của cfDNA trong tầm soát trisomy 21 (137 trường hợp), trisomy 18 (50 trường hợp), 13 (11 trường hợp) lần lượt là 99,0% và 0,02%; 92,8% và 0,01%; 94,7% và 0,10%^[16].

Yanfei Xu và cộng sự thực hiện nghiên cứu tiến cứu trên hơn 59.000 thai phụ đến khám tại Bệnh viện Phụ nữ Chiết Giang từ năm 2015 đến 2019 nhằm so sánh giá trị NIPS trong tầm soát lệch bội giữa song thai và đơn thai. Kết quả nghiên cứu ghi nhận 7 trường hợp trisomy 21 ở song thai, xét nghiệm đạt độ nhạy 100% (KTC 95%, 59,0 – 100), dương tính giả 0,0% (KTC 95%, 0 – 0,2) trong song thai và giá trị này khác biệt không có ý nghĩa thống kê với nhóm thai phụ đơn thai trong nghiên cứu^[17].

Bảng 2. Tầm soát trisomy 21 bằng PAPP – A + Free beta HCG + NT + tuổi mẹ.

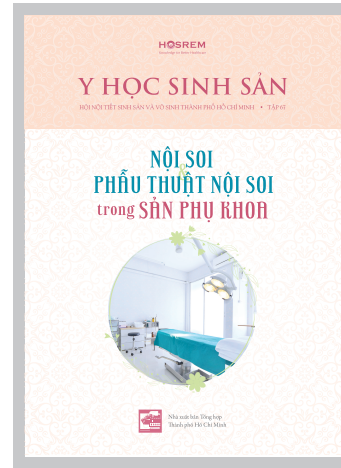
Tài liệu tham khảo	Cut – off	Tri 21/Tổng song thai	Độ nhạy (%)	Tỷ lệ dương giả (%)
Wald, 2005 (MC)			84	5,0
Vandercruys, 2005 (MC)	1/300	6/769	72	5,0
Spencer, 2003	1/300	4/206	75	9,0

KẾT LUẬN

Trong giai đoạn hiện tại, từ những thành công và các kết quả của nhiều nghiên cứu đã được chứng minh, việc tầm soát lệch bội nhiễm sắc thể 21 bằng cfDNA ở song thai đã được ACOG và SMFM (2020) khuyến khích. Vì số trường hợp bất thường được ghi nhận còn thấp đối với nhiễm sắc thể 13 và 18, nên NIPS chưa thể kết luận được giá trị của kết quả^[9]. Tuy nhiên cần tư vấn với bệnh nhân khả năng xét nghiệm NIPS thất bại “no – call” trước khi thực hiện.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Loane M, Morris JK, Addor MC, et al. Twenty – year trends in the prevalence of Down syndrome and other trisomies in Europe: Impact of maternal age and prenatal screening. *Eur J Hum Genet* 2013;21(1):27 – 33
2. Wang E, Batey A, Struble C, et al. Gestational age and maternal weight effects on fetal cell – free DNA in maternal plasma. *Prenat Diagn*. 2013; 33(7):662 – 6
3. Hui L, Bianchi DW. Noninvasive prenatal DNA testing: The vanguard of genomic medicine. *Annu Rev Med* 2017; 68:459 – 472
4. Bianchi DW, Chudova D, Sehnert AJ, et al. Noninvasive prenatal testing and incidental detection of occult maternal malignancies. *JAMA*. 2015;314(2):162 – 9
5. Benn P, Borrell A, Chiu R, et al. Position statement from the Chromosome Abnormality Screening Committee on behalf of the Board of the International Society for Prenatal Diagnosis. *Prenat Diagn* 2015; 35(8):725 – 34
6. Cuckle H. cfDNA screening performance: Accounting for and reducing test failures. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017; 49(6):689 – 692
7. Grömminger S, Erkan S, Schöck U, et al. The influence of low molecular weight heparin medication on plasma DNA in pregnant women. *Prenat Diagn*. 2015; 35(11):1155 – 7
8. Benn P. The significance of test failures in noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy using cell – free DNA. *J Fetal Med* 2017; 4:13–18
9. Screening for Fetal Chromosomal Abnormalities. ACOG Practice Bulletin, Number 226. *Obstet Gynecol*. 2020;136(4):e48 – e69
10. Hall JG. Twinning. *Lancet* 2003; 30;362(9385):735 – 43
11. Audibert F, Gagnon A. No. 262 – Prenatal Screening for and Diagnosis of Aneuploidy in Twin Pregnancies. *J Obstet Gynaecol Can*. 2017;39(9):e347 – e361
12. Sebire NJ, Souka A, Skentou H, et al. Early prediction of severe twin – twin transfusion syndrome. *Hum Reprod* 2000; 15(9):2008 – 10
13. Wald NJ, Rish S, Hackshaw AK. Combining nuchal translucency and serum markers in prenatal screening for Down syndrome in twin pregnancies. *Prenat Diagn* 2003; 23(7):588 – 92
14. Leung TY, Qu JZ, Liao GJ, et al. Noninvasive twin zygosity assessment and aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing. *Prenat Diagn* 2013; 33(7):675 – 81
15. Struble CA, Syngelaki A, Oliphant A, et al. Fetal fraction estimate in twin pregnancies using directed cell – free DNA analysis. *Fetal Diagn Ther* 2014; 35:199 – 203
16. Judah H, Gil MM, Syngelaki A, et al. Cell – free DNA testing of maternal blood in screening for trisomies in twin pregnancy: updated cohort study at 10 – 14 weeks and meta – analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2021;58(2):178 – 189
17. Xu Y, Jin P, Lei Y, et al. Clinical Efficiency of Non – invasive Prenatal Screening for Common Trisomies in Low – Risk and Twin Pregnancies. *Front Genet*. 2021;12:661884



BAN BIÊN SOẠN

GS. Nguyễn Thị Ngọc Phượng (Chủ biên)

PGS. TS. Nguyễn Ngọc Thoa

GS. TS. Trần Thị Lợi

ThS. BS. Hồ Mạnh Tường

BAN THƯ KÝ

BS. Huỳnh Thị Tuyết

ThS. BS. Nguyễn Khánh Linh

Trần Hữu Yến Ngọc

Nguyễn Thạch Thảo Nguyễn

Văn phòng HOSREM

**Phòng 3.3, tầng 3, tòa nhà Thanh Niên,
số 345/134 Trần Hưng Đạo, Phường Cầu Kho,
Quận 1, TP Hồ Chí Minh**

ĐT: 0933.456.650

Giờ tiếp hội viên:

Thứ hai – thứ sáu (8:00 – 11:30, 13:30 – 17:00)

vanphong@hosrem.vn, www.hosrem.org.vn

Y học sinh sản là tài liệu chuyên ngành của Hội Nội tiết sinh sản và Vô sinh TP. Hồ Chí Minh (HOSREM) dành cho hội viên và nhân viên y tế có quan tâm.

Các thông tin của Y học sinh sản mang tính cập nhật và tham khảo. Trong những trường hợp lâm sàng cụ thể, cần tìm thêm thông tin trên y văn có liên quan.

Y học sinh sản xin cảm ơn và chân thành tiếp nhận các bài viết, phản hồi, góp ý của hội viên và độc giả cho tài liệu.

Mọi sao chép, trích dẫn phải được sự đồng ý của HOSREM hoặc của các tác giả.

HOSREM® 2023