

# ỨNG DỤNG KỸ THUẬT BOBS ĐỂ PHÁT HIỆN MỘT SỐ HỘI CHỨNG LỆCH BỘI VÀ MẤT ĐOẠN NHỎ NHIỄM SẮC THỂ THAI TRONG CHẨN ĐOÁN TRƯỚC SINH

Phan Thị Thu Giang<sup>(1)</sup>, Hoàng Thị Ngọc Lan<sup>(2)</sup>, Trần Danh Cường<sup>(2)</sup>, Bùi Đức Thắng<sup>(2)</sup>, Nguyễn Thị Hoa<sup>(2)</sup>  
(1) Trường Đại học Y Hà Nội, (2) Bệnh viện Phụ Sản Trung ương

**Từ khóa:** BoBs, chẩn đoán trước sinh, Hội chứng DiGeorge.  
**Keywords:** BoBs, prenatal diagnosis, DiGeorge Syndrome.

## Tóm tắt

**Mục tiêu:** Đánh giá giá trị kỹ thuật BoBs trong phát hiện một số lệch bội và mất đoạn nhỏ nhiễm sắc thể của thai.

**Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** 30 mẫu dịch ối của các thai phụ có nguy cơ cao cho bất thường nhiễm sắc thể (NST) với tuổi thai  $\geq 16$  tuần được xét nghiệm đồng thời kỹ thuật BoBs và kỹ thuật nuôi cấy tế bào ối để phân tích NST lập karyotype.

**Kết quả:** có 6/30 mẫu ối có bất thường NST, trong đó kỹ thuật BoBs phát hiện 6/6 mẫu bất thường NST bao gồm: 2 trường hợp Trisomy 21, 1 trisomy 18, 2 hội chứng DiGeorge, 1 hội chứng Cri-du-chat còn phân tích NST lập karyotype phát hiện 3/6 trường hợp bất thường (2 Trisomy 21; 1 trisomy 18).

**Kết luận:** ứng dụng kỹ thuật BoBs đã phát hiện được 3 trường hợp mất đoạn nhỏ NST (2 hội chứng DiGeorge, 1 hội chứng Cri-du-chat) mà phương pháp lập karyotype không phát hiện được vì vậy cần kết hợp kỹ thuật BoBs với di truyền tế bào trong chẩn đoán trước sinh.

**Từ khóa:** BoBs, chẩn đoán trước sinh, Hội chứng DiGeorge.

## Abstract

APPLICATIONS BOBS TECHNIQUE FOR DETECTION SOME COMMON CHROMOSOME ANEUPLOIDY AND MICRODELETION IN PRENATAL DIAGNOSIS

**Objective:** To evaluate the value of the BoBs assay for prenatal detection of chromosomal aneuploidies and microdeletions.

**Objects and Methods Study:** amniotic fluid samples of 30 women with gestational age  $\geq 16$  weeks in the Center of Prenatal Diagnosis, National Hospital of Obstetrics and Gynecology. Each specimen was tested by BoBs and cytogenetics.

**Results:** abnormal chromosome were detected in 6 samples by BoBs and cytogenetics. 2 Trisomy 21; 1 trisomy 18 were found by both BoBs and cytogenetics method. Bobs technique detected 2 cases DiGeorge syndrome, 1 case Cri-du-chat syndrome which missed by cytogenetic method.

Tác giả liên hệ (Corresponding author):  
Hoàng Thị Ngọc Lan,  
email: hoangngoclan.cdts@gmail.com  
Ngày nhận bài (received): 01/03/2017  
Ngày phản biện đánh giá bài báo (revised):  
15/03/2017  
Ngày bài báo được chấp nhận đăng  
(accepted): 28/04/2017

**Conclusion:** Bobs assay detected 2 cases DiGeorge syndrome, 1 case Cri-du-chat syndrome that cytogenetic methods did not detect. Our data suggested that prenatal diagnosis should be combined both cytogenetic and Bobs assay.

**Keywords:** BoBs, prenatal diagnosis, DiGeorge Syndrome.

## 1. Đặt vấn đề

Chẩn đoán và phát hiện sớm các bệnh lý di truyền ở thời kỳ phôi thai là cần thiết để có thể đảm bảo cho ra đời những đứa trẻ khỏe mạnh nhằm nâng cao chất lượng dân số. Hiện nay, phương pháp phân tích NST và QF-PCR (Quantitative fluorescence) là hai kỹ thuật đang được sử dụng thường xuyên nhất. Lập karyotype là tiêu chuẩn vàng được sử dụng để chẩn đoán các bất thường nhiễm sắc thể (NST) với khả năng đánh giá được toàn bộ NST với độ chính xác cao [1]. Tuy nhiên, hai phương pháp này không xác định được các mất đoạn nhỏ NST, nhất là các trường hợp vi mất đoạn NST. Kỹ thuật BoBs (Bacs-on-Beads) ra đời đã khắc phục được những hạn chế của các kỹ thuật này. BoBs có khả năng phát hiện nhanh bất thường liên quan đến NST 13, 18, 21, X, Y và 9 hội chứng vi mất đoạn NST được chọn mà các hội chứng vi mất đoạn này có thể bị bỏ sót khi xét nghiệm bằng kỹ thuật di truyền tế bào hay QF-PCR. Kỹ thuật này chính xác với tỷ lệ thất bại khoảng 4%. Hơn nữa, hậu quả của các đột biến vi mất đoạn NST vô cùng nặng nề, gây ra bất thường cho hầu hết các hệ cơ quan quan trọng như thần kinh, tim mạch, xương khớp đặc biệt gây chậm phát triển trí tuệ. Với ưu điểm của kỹ thuật BoBs là có thể đánh giá nhiều mẫu bệnh phẩm trong một lần xét nghiệm, kỹ thuật hiện đại, tính tự động hóa cao, thời gian thực hiện kỹ thuật và có kết quả từ 24-48h [2], xét nghiệm này đã được chứng chỉ IVD và giá thành xét nghiệm được chấp nhận.

Kỹ thuật này đã được áp dụng phổ biến trên thế giới, ở Việt Nam kỹ thuật BoBs vẫn còn mới vì vậy chúng tôi tiến hành đề tài này với hai mục tiêu: (1) Mô tả một số lệch bội và vi mất đoạn NST thai trong chẩn đoán trước sinh bằng kỹ thuật Bobs và (2) Nhận xét

kết quả của kỹ thuật Bobs trong chẩn đoán trước sinh một số hội chứng lệch bội và vi mất đoạn NST thai.

## 2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu gồm 30 mẫu dịch ối của thai phụ có 1 thai  $\geq 16$  tuần đã được chọc hút ối, có kết quả sàng lọc thuộc nhóm nguy cơ cao cho bất thường di truyền đặc biệt là các thai phụ có hình ảnh siêu âm thai bất thường như dị tật ở hệ thống tim mạch... Xét nghiệm được tiến hành tại Trung tâm Chẩn đoán trước sinh Bệnh viện Phụ Sản Trung ương từ 08/2016 – 11/2016. Với phương pháp nghiên cứu ngang mô tả chọn mẫu có chủ đích là những mẫu có nguy cơ cao cho vi mất đoạn NST. Mỗi mẫu ối được xét nghiệm đồng thời kỹ thuật BoBs và kỹ thuật nuôi cấy tế bào ối để phân tích NST lập karyotype.

Phân tích kết quả lập karyotype theo tiêu chuẩn quốc tế 2015 còn kết quả của BoBs sẽ 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 ADN mẫu trên số lượng tín hiệu huỳnh quang của ADN chứng kết quả bình thường khi tỷ lệ tín hiệu huỳnh quang từ 0,8-1,3; là mất đoạn NST khi tỷ lệ  $< 0,8$ , là thêm đoạn khi tỷ lệ  $> 1,3$ .

Xử lý và phân tích số liệu theo phần mềm SPSS 16.0.

## 3. Kết quả nghiên cứu

### 3.1. Kết quả phân tích nhiễm sắc thể và kết quả BoBs

Có 24/30 trường hợp có kết quả di truyền bình thường (cả 2 phương pháp). Trong số 6/30

Bảng 1. So sánh kết quả của BoBs với kết quả karyotype

Kiểu NST	Kết quả BoBs		Kết quả karyotype	
	Số mẫu	Tỷ lệ (%)	Số mẫu	Tỷ lệ (%)
Bình thường	24	80	27	90
Trisomy 18	1	3,33	1	3,33
Trisomy 21	2	6,67	2	6,67
Mất đoạn nhỏ NST	3	10	0	0
Tổng	30	100	30	100

mẫu bất thường, kỹ thuật Bobs phát hiện được 6/6 trường hợp chiếm 100% còn di truyền tế bào chỉ phát hiện được 3/6 trường hợp chiếm 50%.

### 3.2. Đối chiếu kết quả di truyền với kết quả sàng lọc trước sinh

Bảng 2. Đối chiếu kết quả di truyền tế bào và kỹ thuật BoBs với kết quả sàng lọc ở những trường hợp có bất thường di truyền

TT	Siêu âm thai	Sàng lọc HTM	Kết quả BoBs	Karyotype
1	Thông liên thất	Không XN	47,XX, + 21	47,XX, + 21
2	Thông liên thất, đa ối	Không XN	47,XX, + 18	47,XX, + 18
3	Tứ chứng Fallot	Không XN	HC** DiGeorge	46,XY
4	Thông liên thất, theo dõi đứt quai ĐMC	Không XN	HC DiGeorge	46,XY
5	TKSSG*, thông liên thất	Không XN	47,XY, + 21	47,XY, + 21
6	Hở ống thần kinh	Nguy cơ HC Down 1/26	HC Cri-du Chat	46,XX

\*TKSSG: tăng khoảng sáng sau gáy, \*\*HC: Hội chứng

6/6 mẫu bất thường đều có siêu âm thai bất thường, trong đó có 5/6 trường hợp liên quan với dị tật tim, mạch. Trong 3 trường hợp vi mất đoạn NST có 2 trường hợp thai mắc hội chứng DiGeorge đều có dị tật ở tim, mạch và 1 trường hợp thai mắc hội chứng Cri du chat có dị tật ở ống thần kinh.

## 4. Bàn luận

Nghiên cứu tiến hành trên 30 thai phụ tham gia chọc ối có tuổi thai > 16 tuần. Mỗi mẫu ối được xét nghiệm bằng kỹ thuật BoBs và kỹ thuật phân tích NST lập karyotype. Bằng kỹ thuật BoBs đã phát hiện được 6/30 mẫu có bất thường NST và 24/30 mẫu có kết quả bình thường. Trong số bất thường NST thì 3 trường hợp lệch bội (2 hội chứng Down, 1 hội chứng Edwards), 3 trường hợp vi mất đoạn NST (2 DiGeorge, 1 Cri-du-chat).

Đánh giá giá trị kỹ thuật BoBs trong chẩn đoán trước sinh một số hội chứng mất đoạn nhỏ và bất thường nhiễm sắc thể. Phương pháp phân tích NST lập karyotype từ lâu đã được xem là tiêu chuẩn vàng trong việc đánh giá bộ NST người. Vì vậy, chúng tôi lựa chọn phương pháp này làm cơ sở để đánh giá kỹ thuật BoBs. Theo bảng 1, kết quả của BoBs và phân tích NST lập karyotype phù hợp 24/30

trường hợp. Sử dụng kỹ thuật BoBs đã chẩn đoán được 6/6 (chiếm tỷ lệ 100%) trường hợp bất thường NST, trong khi với phương pháp lập karyotype chỉ phát hiện được 3/6 mẫu chiếm 50%. Kỹ thuật BoBs cho kết quả giống với kỹ thuật di truyền tế bào với độ chính xác 100% ở tất cả các trường hợp trisomy 21 và trisomy 18, phù hợp với nghiên cứu của Choy và cộng sự (2014), khi so sánh kỹ thuật BoBs với hai phương pháp lập karyotype và QF-PCR ở 2153 mẫu chẩn đoán trước sinh cho thấy tất cả trường hợp lệch bội của NST 13, 18, 21, X và Y đều được phát hiện [3]. Ngoài ra BoBs còn phát hiện thêm được 3 trường hợp có đột biến vi mất đoạn NST mà không được phát hiện bằng phương pháp phân tích NST thông thường cũng như phương pháp QF-PCR, đó là 2 trường hợp thai hội chứng DiGeorge và 1 trường hợp Cri-du-chat. Đây là những hội chứng vi mất đoạn có kích thước < 5 Mb, trong khi phương pháp di truyền tế bào chỉ phát hiện được mất đoạn với kích thước lớn hơn 10Mb [4]. Hội chứng DiGeorge là hội chứng đa dị tật bẩm sinh với những dị tật ở tim mạch, bất thường ở vòm miệng, thiếu hụt miễn dịch và đặc biệt là gây ra chậm phát triển tâm thần [5],[6]. Chẩn đoán sớm sẽ giúp giảm đáng kể chi phí chăm sóc y tế và có thể giúp cho sự phát triển lâu dài của trẻ.

Về mối liên hệ giữa kết quả di truyền tế bào, kỹ thuật BoBs và sàng lọc trước sinh. Qua bảng 2, thấy rằng một trường hợp có dấu hiệu tăng khoảng sáng sau gáy và thông liên thất phát hiện trên siêu âm thì kết quả chẩn đoán của cả hai kỹ thuật đều là thai mắc hội chứng trisomy 21, điều này cũng được thể hiện trong nghiên cứu của tác giả Hoàng Thị Ngọc Lan và cộng sự (2006) [7], khi sử dụng dấu hiệu tăng khoảng sáng sau gáy để phát hiện thai mắc hội chứng Down có tỷ lệ phát hiện cao. Như vậy có 5/6 trường hợp trên siêu âm phát hiện dị tật hệ tim mạch (thông liên thất, tứ chứng Fallot, theo dõi đứt quai động mạch chủ), trong đó có 3 loại đột biến khác nhau: trisomy 21, trisomy 18 và 2 trường hợp hội chứng DiGeorge. Như vậy, mặc dù kết quả sàng lọc trước sinh đều hướng tới hội chứng Down, nhưng trên thực tế còn gặp một số đột biến NST khác nữa. Kết quả này có thể giải thích vì hội chứng DiGeorge gây tổn thương nhiều cơ quan bộ phận trong đó bất thường hệ tim mạch chiếm 75% [8]. Mặt khác, hội chứng Down là hội chứng

được chẩn đoán bằng phương pháp di truyền tế bào, do vậy nếu chúng ta chỉ căn cứ vào kết quả sàng lọc trước sinh mà chỉ định nuôi cấy tế bào hay QF-PCR thì sẽ bỏ sót rất nhiều trường hợp liên quan với vi mất đoạn NST. Trong những hội chứng vi mất đoạn là thì hội chứng DiGeorge hay gặp (1/4000) [9], nó gây ra hậu quả rất nghiêm trọng, siêu âm có những dấu hiệu chỉ điểm như bất thường hệ tim mạch, bất thường về vòm miệng. Tuy nhiên, các dấu hiệu này cũng gặp trong một số bất thường NST khác. Hơn nữa, một số hội chứng vi mất đoạn rất khó được phát hiện trên siêu âm và ngay cả khi trẻ được sinh ra như hội chứng Prader – Willi/Angelman vì vậy việc đưa kỹ thuật BoBs vào chẩn đoán trước sinh là cần thiết. Trong nghiên cứu có 1 trường hợp vừa có kết quả siêu âm bất thường vừa có sàng lọc huyết thanh mẹ thuộc nguy cơ cao với hội chứng Down, thai được chẩn đoán 46,XX, nhưng lại được chẩn đoán là hội chứng Cri-du-chat bằng kỹ thuật BoBs. Kết quả này cho chúng ta thấy sàng lọc huyết thanh mẹ không chỉ sàng cho hội chứng Down, hội chứng Edwards mà còn sàng lọc các dạng bất thường NST khác. Hầu hết các hội chứng vi mất đoạn nhỏ NST đều gây ra chậm

phát triển trí tuệ vì vậy việc phát hiện trước sinh những dạng đột biến này là rất cần thiết. Ngoài ra, kỹ thuật BoBs có thể đánh giá nhiều mẫu bệnh phẩm trong một lần xét nghiệm, thời gian thực hiện nhanh, chính xác, giá thành phù hợp cho cộng đồng. Vì vậy, việc phối kết hợp phương pháp di truyền tế bào và kỹ thuật BoBs trong chẩn đoán trước sinh giúp chẩn đoán nhanh, chính xác và tránh bỏ sót các trường hợp vi mất đoạn NST, giúp thai phụ và gia đình có hướng xử trí kịp thời [10].

## 5. Kết luận

Qua nghiên cứu 30 mẫu ối được thực hiện kỹ thuật BoBs và kỹ thuật di truyền tế bào (lập karyotype) tại Bệnh viện Phụ Sản Trung ương đã phát hiện 6 mẫu bất thường NST. Trong đó bằng kỹ thuật di truyền tế bào chỉ phát hiện được 3/6 trường hợp bất thường NST (2 Trisomy 21; 1 trisomy 18) còn bằng kỹ thuật BoBs phát hiện được 6/6 (thêm 3 trường hợp vi mất đoạn NST so với di truyền tế bào). Kỹ thuật BoBs phát hiện được 2 trường hợp HC DiGeorge, 1 trường hợp hội chứng Cri-du-chat mà phương pháp di truyền tế bào không phát hiện được.

## Tài liệu tham khảo

1. Choy RK, Chen Y, Sun XF, Kwok YK, Leung TY. BACs-on-beads: a new robust and rapid detection method for prenatal diagnosis. *Expert Rev Mol Diagn.* 2014; 14(3):273-80.
2. Vialard F, Simoni G, Aboura A, De Toffol S, Molina Gomes D, Marcato L. Prenatal BACs-on-Beads™. A new technology for rapid detection of aneuploidies and microdeletions in prenatal diagnosis. *Prenat Diagn.* 2011; 31(5), 500-8.
3. Choy KW et. al. Diagnostic accuracy of the BACs-on-Beads™ assay versus karyotyping for prenatal detection of chromosomal abnormalities: a retrospective consecutive case series. *BJOG.* 2014; 121 (10): 1245–52.
4. Cirigliano V, Ejarque M, Canãdas MP, et al. Clinical application of multiplex quantitative fluorescent polymerase chain reaction (QF-PCR) for the rapid prenatal detection of common chromosome aneuploidies. *Mol Hum Reprod.* 2001; 7:1001-6
5. Bassett AS, Chow EW, AbdelMalik P, Gheorghiu M, Husted J, Weksberg R. The schizophrenia phenotype in 22q11 deletion syndrome. *Am J Psychiatry.* 2003; 160 (9), 1580–6.
6. Debbané M, Glaser B, David MK, Feinstein C, Eliez S. Psychotic

symptoms in children and adolescents with 22q11.2 deletion syndrome: Neuropsychological and behavioral implications. *Schizophr. Res.* 2006; 84 (2–3), 187–93.

7. Hoàng Thị Ngọc Lan, Nguyễn Việt Hùng, Trần Danh Cường, Trịnh Văn Bảo, Trần Thị Thanh Hương. Phân tích nhiễm sắc thể của tế bào ối nuôi cấy có đối chiếu với kết quả của siêu âm thai và test sàng lọc trước sinh. *Tạp chí Nghiên cứu Y học. Đại học Y Hà Nội.* 2006; Phụ trương 40 (1). Tr 47-53.

8. Swillen, A; Vogels, A; Devriendt, K; Fryns, JP. Chromosome 22q11 deletion syndrome: update and review of the clinical features, cognitive-behavioral spectrum, and psychiatric complications. *American Journal of Medical Genetics.* 1999; 97 (2), 128–35.

9. Oskarsdóttir S, Vujic M, Fasth A. Incidence and prevalence of the 22q11 deletion syndrome: a population-based study in Western Sweden. *Arch. Dis. Child.* 2004; 89(2), 148–51.

10. Vialard F, Simoni G, Gomes DM, et al. Prenatal BACs-on-Beads™: the prospective experience of five prenatal diagnosis laboratories. *Prenat Diagn.* 2012; 32, 329-35.