

ẢNH HƯỞNG CỦA THẺ KHẨM KHU TRÚ BÁNH NHAU VÀ KẾT QUẢ NIPT

THS.BS BÙI KIỀU YẾN TRANG
KHOA XÉT NGHIỆM DI TRUYỀN Y HỌC- BV TỪ DŨ



HỘI NGHỊ SẢN PHỤ KHOA LẦN THỨ
VIỆT - PHÁP - CHÂU Á **19**
THÁI BÌNH DƯƠNG



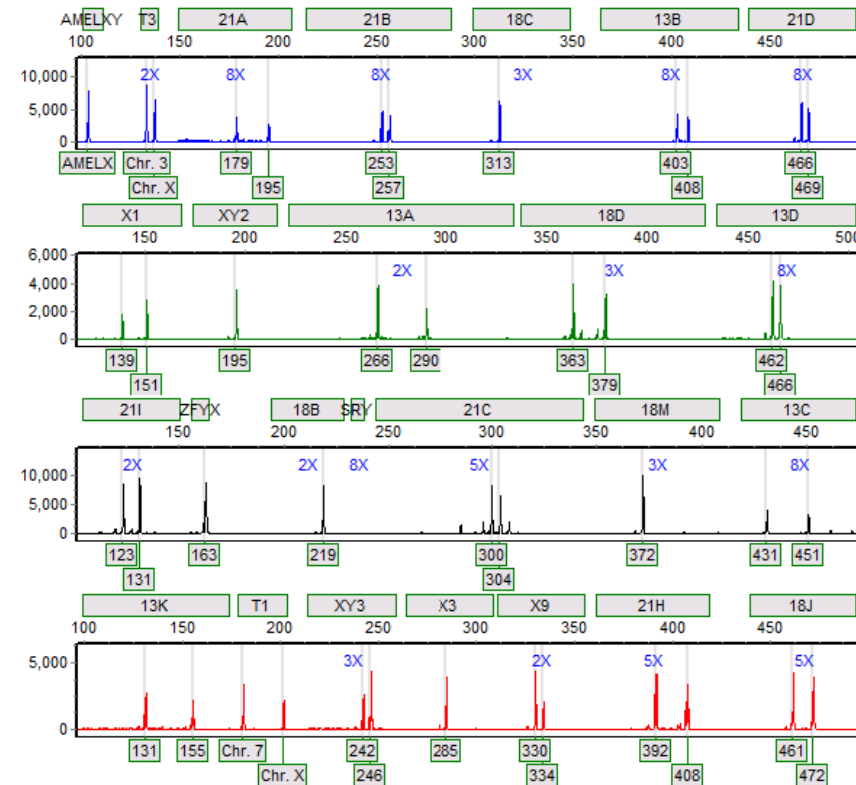
QF-PCR mẫu gai nhau: XX/XO?



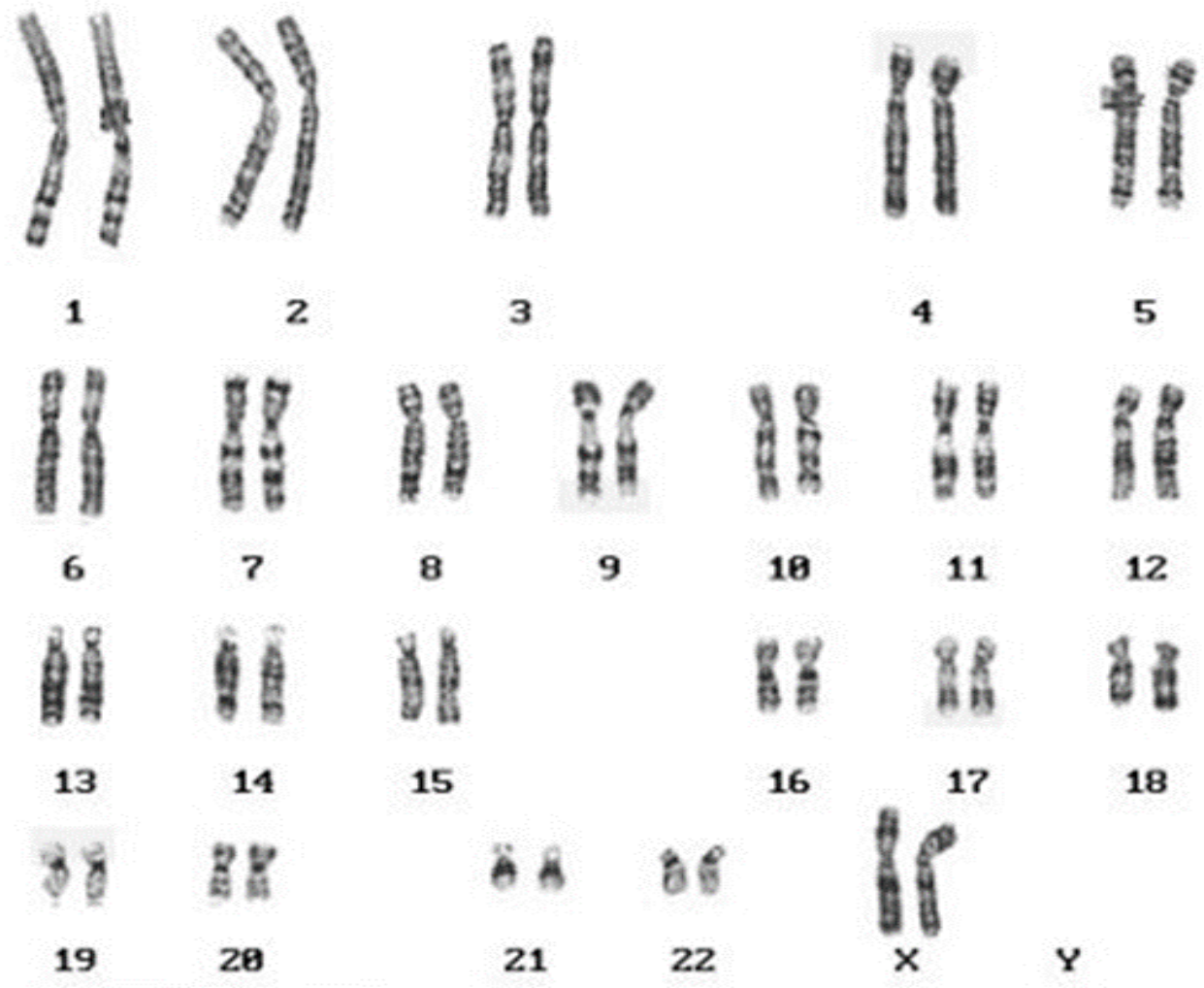
Aneuploidy Analysis Report - SoftGenetics	
Sample: CVS-44B09QFCVS-190301-NGANTRANG.fsa	
Software: GeneMarker V1.85	Analysis Type: Trisomy
Project: CVS-42-46.DR06.DR07.SGF	Panel: Devyser_Compact_v3
Operator:	Classification: Trisomy < 0.77 or Trisomy > 1.46
Report Time: 05/09/2019 - 16:04:09	Report Type: Peak Height Ratio
Exp Time: 01/01/2019 - 15:50:01 -> 01/01/2019 - 16:27:32	Plot: Raw Peak Height Ratio, Selected Samples are Displayed

Conclusion		
Comments:		
	Date	Initial
Authorization 1		
Authorization 2		

Marker	Alleles	Allele Length	Peak Height	Peak Ratio	Check
13A	3 (2:1)	266:290	1915:1076	1.78	
13B	2	403:408	547:478	1.14	
13C	2	431:451	511:407	1.26	
13D	2	462:466	520:476	1.09	
13K	2	131:155	2727:2211	1.23	
18B	1	219	4113		
18C	1	313	2102		
18D	2	363:379	1322:1085	1.22	
18J	2	461:472	858:794	1.08	
18M	1	372	3345		
21A	2	179:195	481:343	1.40	
21B	2	253:257	586:507	1.16	
21C	2	300:304	1653:1297	1.27	
21D	2	466:469	751:651	1.15	
21H	2	392:408	839:690	1.22	
21I	2	123:131	4263:4762	0.90	
AMELXY	1	AMELX	7963		
SRY	0				
T1	3 (2:1)	Chr. 7:Chr. X	3437:2226	1.54	
T3	2	Chr. 3:Chr. X	4427:3271	1.35	
X1	3 (1:2)	139:151	1782:2771	0.64	
X3	1	285	4000		
X9	3 (2:1)	330:334	2172:1031	2.11	
XY2	1	195	3587		
XY3	3 (1:2)	242:246	888:1469	0.60	
ZFYX	1	163	8846		



Kết quả karyotype ôi: 46,XX



KẾT QUẢ KHÔNG TƯƠNG HỢP GIỮA NHAU VÀ THAI



Nghiên cứu của Opstal (PlosOne) 5967 ca sinh thiết gai nhau, có 404 ca trisomy 13,18,21

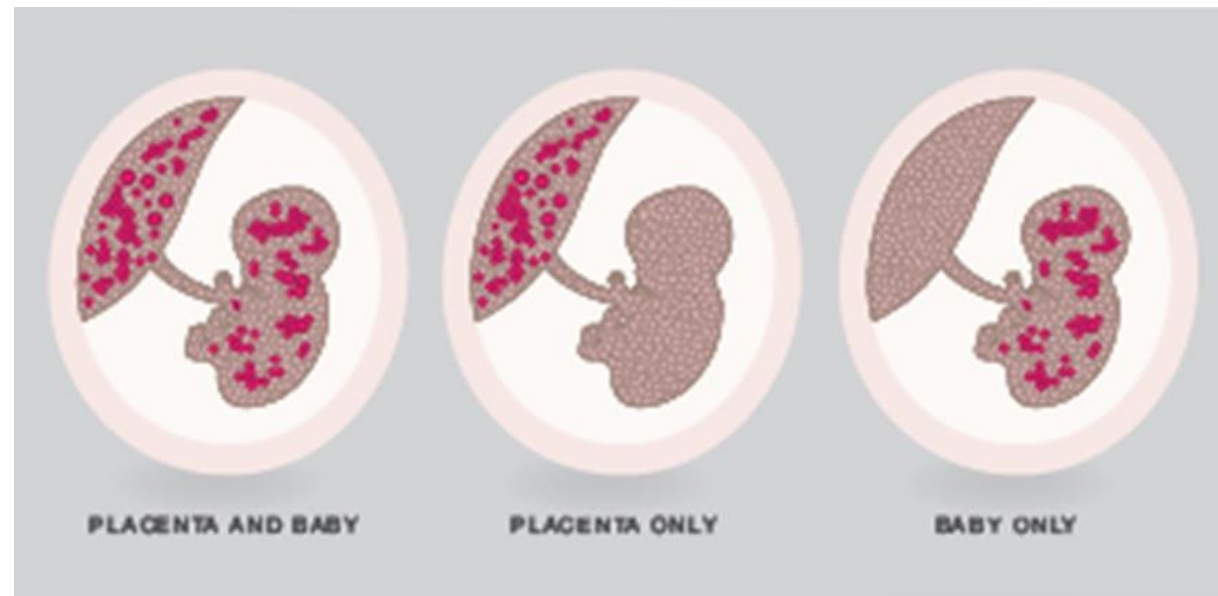
NST	TRISOMY Ở THAI	XN CVS BÌNH THƯỜNG	XN CVS THỂ KHẢM	TỔNG
Trisomy 21	242	3	2	5
Trisomy 18	123	6	3	9
Trisomy 13	39	0	0	0
TỔNG	404	9	5	14 (3.5%)

14/404 (3.5%) trường hợp có kết quả lệch bội NST khác nhau giữa XN mẫu gai nhau và thai

Thể khảm và khảm khu trú ở nhau



- Thể khảm là hiện tượng có 2 hay nhiều dòng tế bào trong cùng 1 cá thể
- Có 2 dạng thể khảm: khảm toàn bộ và khảm khu trú bánh nhau
- Thể khảm khu trú bánh nhau : bộ NST của nhau khác bộ NST của thai

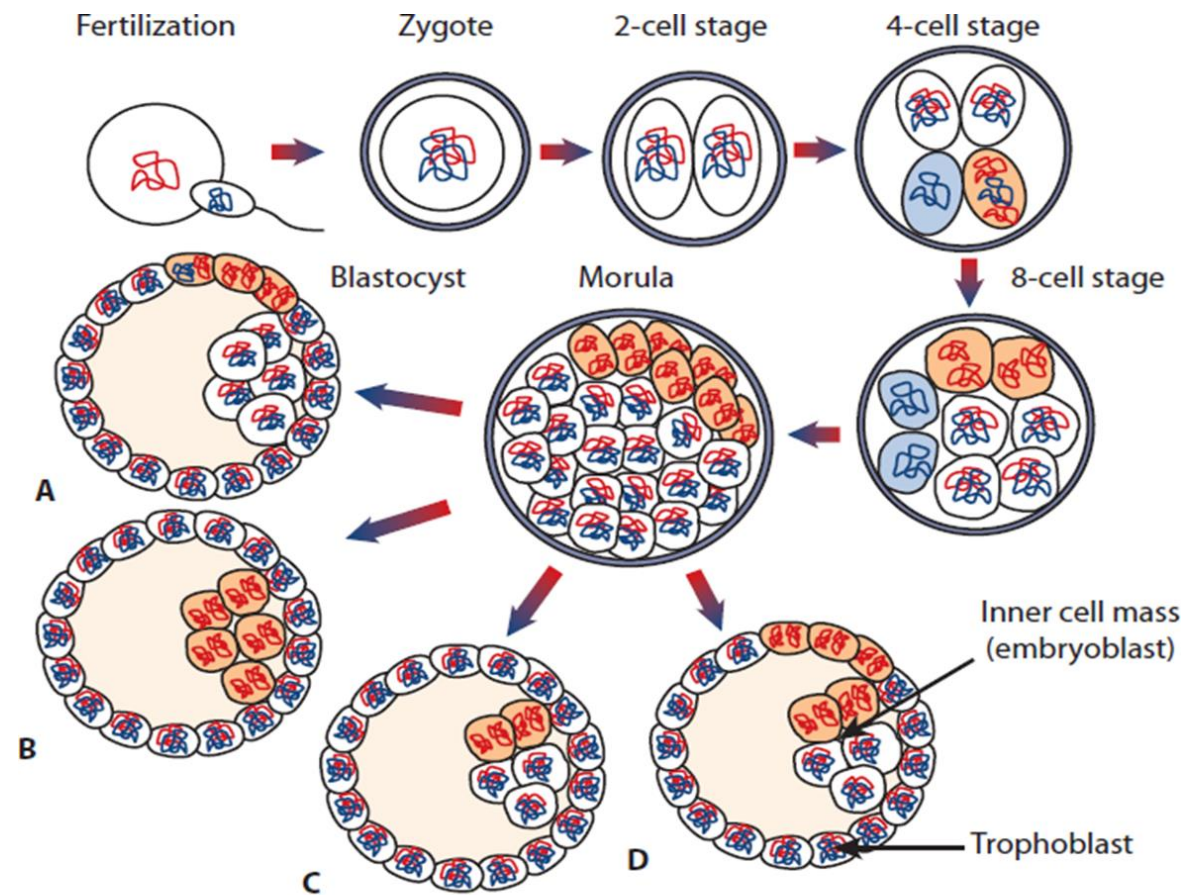


Phân loại khảm khu trú bánh nhau



- CPM loại 1 – Khảm dòng tế bào trophoblast.
- CPM loại 2 – khảm dòng tế bào stroma.
- CPM loại 3 – Khảm cả 2 dòng tế bào: trophoblast và stroma
- CPM loại 1 và loại 3 sẽ dẫn đến dương tính giả trong kết quả NIPT

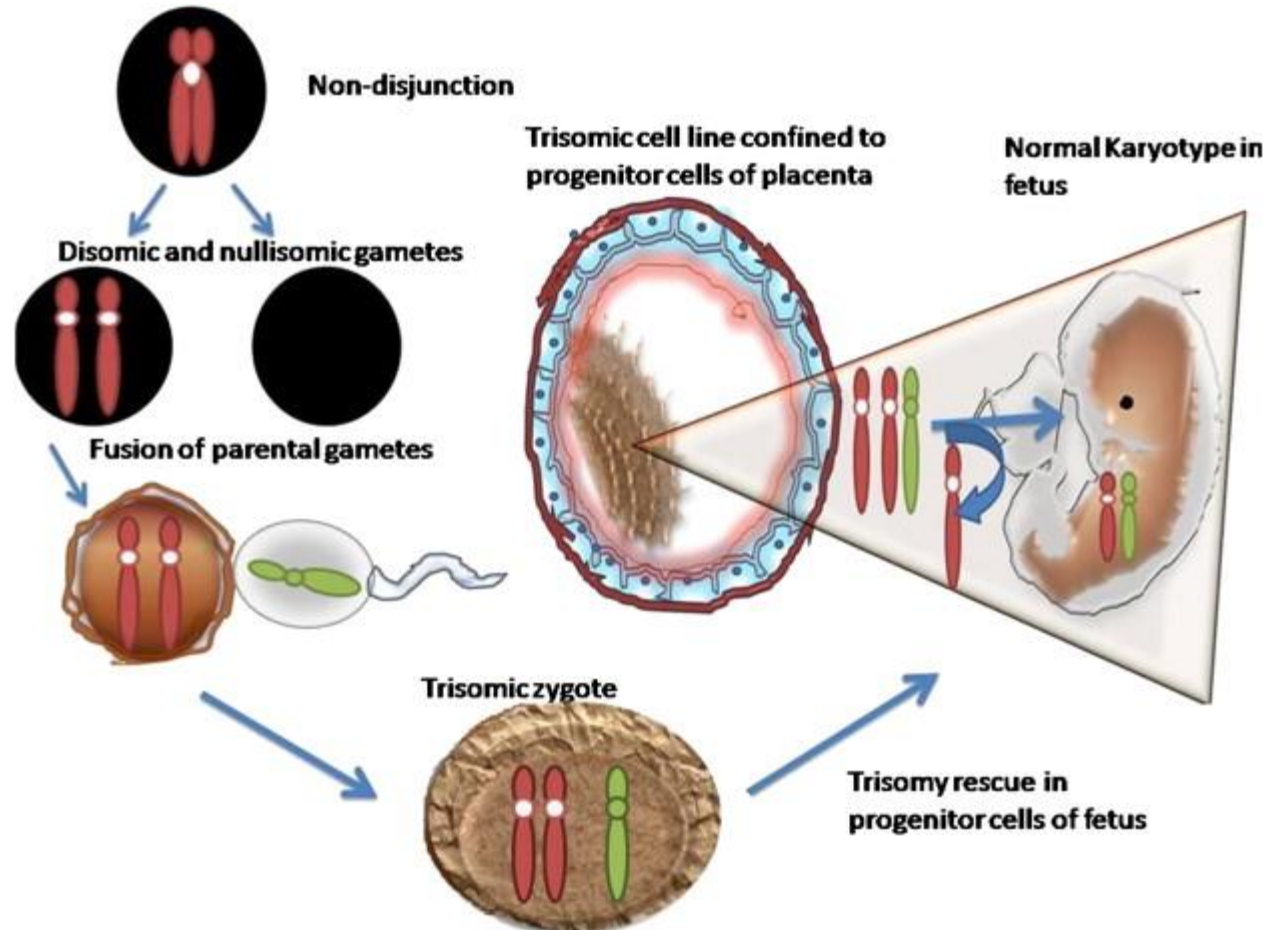
Cơ chế khảm khu trú ở nhau



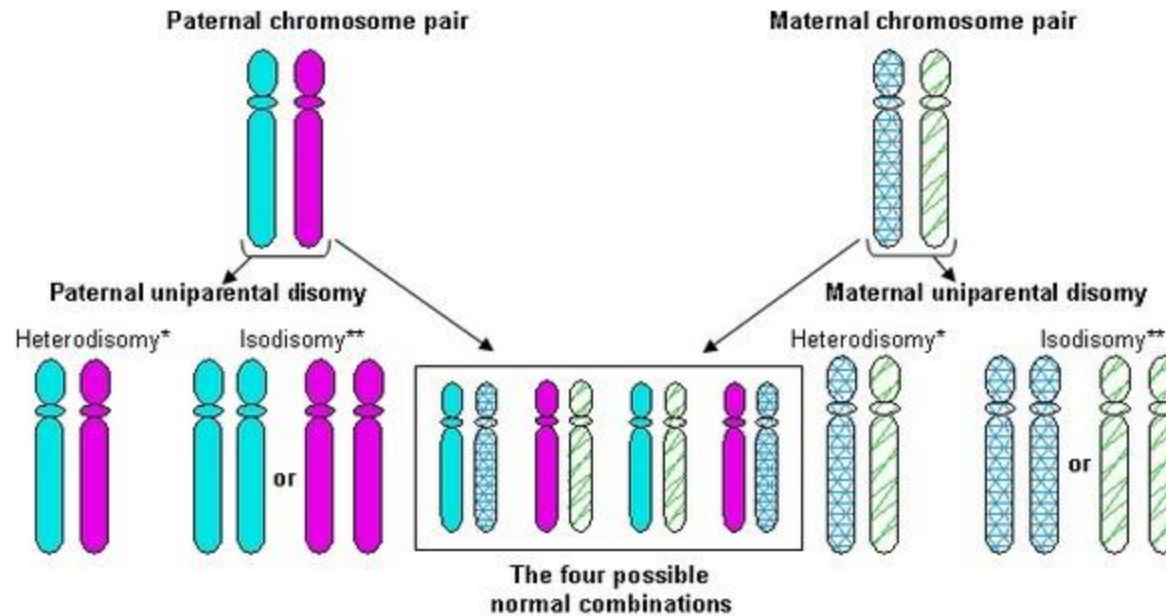
Source: W. Allen Hogge, Aleksandar Rajkovic: *Practical Genetics for the Ob-Gyn*: www.obgyn.mhmedical.com
Copyright © McGraw-Hill Education. All rights reserved.

- Khảm ở nhau: 1-2%: 10-20% khảm ở thai, 80% khảm chỉ khu trú ở bánh nhau
- Cơ chế: Sai sót trong giảm phân tạo giao tử hoặc sai sót trong gián phân sau hợp tử

Cơ chế giải cứu Trisomy



UNIPARENTAL DISOMY



* Heterodisomy = both homologs from a single parent are present

** Isodisomy = identical chromosome is present in duplicate

- Tần suất: 8/10.000
- UPD 15: maternal: Prader-Willi, paternal: Angelman
- UPD 6: methylmalonic acidemia
- UPD 7: cystic fibrosis
- UPD X: Haemophilia

Lịch sử sàng lọc hội chứng Down



1980 : Chọc ối (dựa vào tuổi mẹ)

1990 : Triple screening (T13, T18 and T21)

2000 : First trimester screening (T13, T18 and T21)

2012 : First trimester screening + NIPT (T13, T18 and T21)

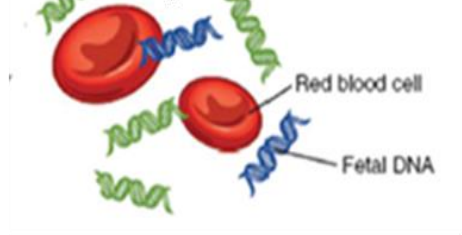
2015 : NIPT (sàng lọc mở rộng)

NIPT

DNA thai 13%
DNA mẹ 87%



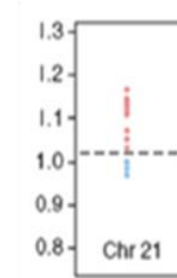
Cell free DNA trong
máu mẹ



Giải trình tự gen song
song hàng loạt-MPS



Sắp xếp các trình tự đọc
được, xác định vị trí trên NST



Sử dụng thuật toán để xác định
Trisomy



Độ nhạy và giá trị tiên đoán dương



		Condition (as determined by "Gold standard")		
		Condition Positive	Condition Negative	
Test Outcome	Test Outcome Positive	True Positive	False Positive (Type I error)	Positive predictive value = $\frac{\Sigma \text{ True Positive}}{\Sigma \text{ Test Outcome Positive}}$
	Test Outcome Negative	False Negative (Type II error)	True Negative	Negative predictive value = $\frac{\Sigma \text{ True Negative}}{\Sigma \text{ Test Outcome Negative}}$
		Sensitivity = $\frac{\Sigma \text{ True Positive}}{\Sigma \text{ Condition Positive}}$	Specificity = $\frac{\Sigma \text{ True Negative}}{\Sigma \text{ Condition Negative}}$	

NIPT DƯƠNG TÍNH GIẢ/ ÂM TÍNH GIẢ



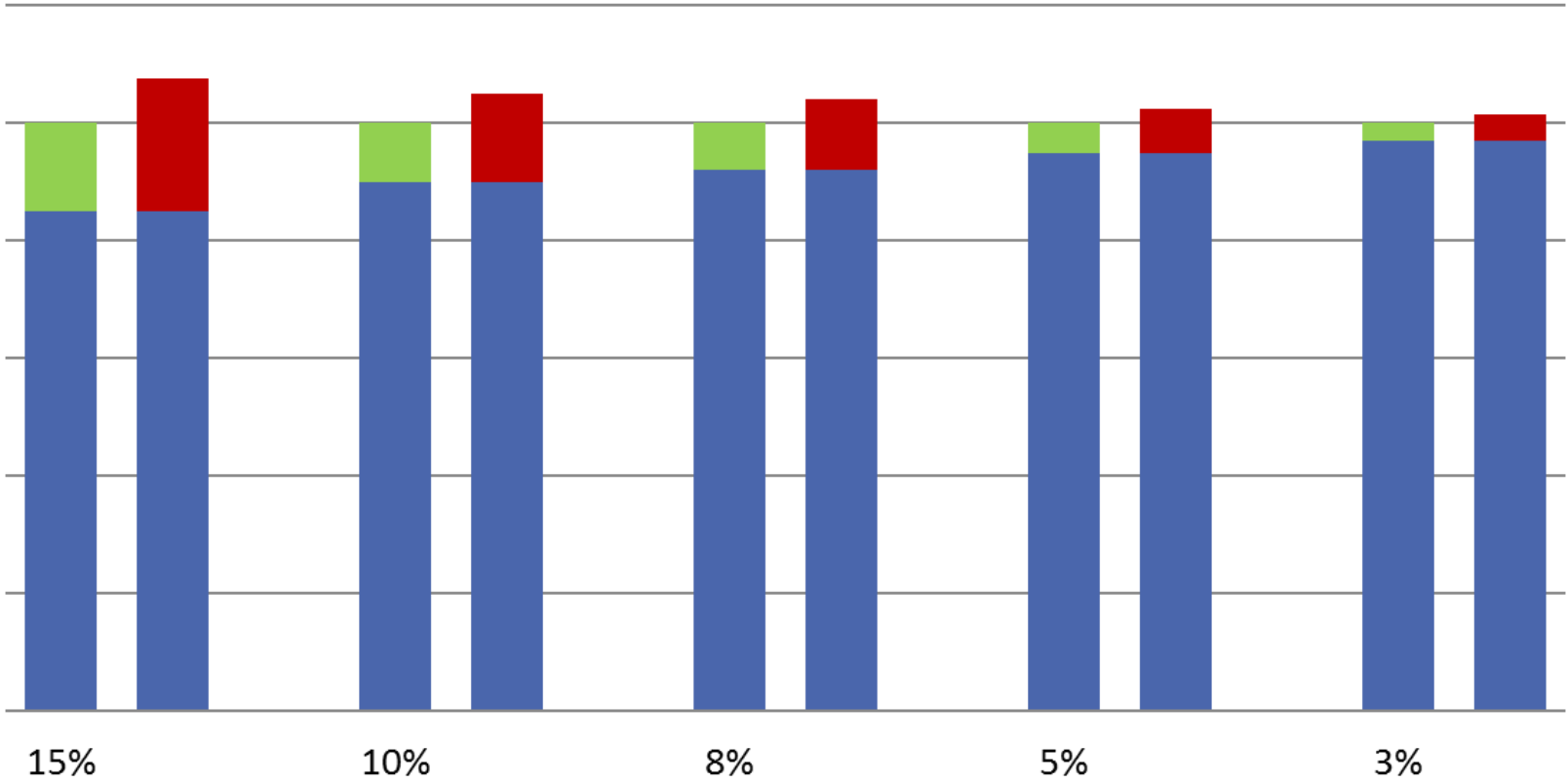
Nghiên cứu của Petersen (AJOG-2017), 712 ca NIPT nguy cơ cao được sinh thiết gai nhau/chọc ối kiểm tra: 492

NIPT result	n	True positive	PPV	False positive rate
Trisomy 13	76	34	45%	55%
Trisomy 18	106	82	77%	23%
Trisomy 21	268	228	85%	15%
Monosomy X	89	24	27%	73%

Nguyên nhân của kết quả bất tương hợp

- Kỹ thuật xét nghiệm: % DNA thai
- Sinh học: Thở khảm khu trú bánh nhau, 1 thai chết trong song thai, bất thường ở mẹ: ung thư hoặc thở khảm

Fetal fraction ảnh hưởng đến kết quả



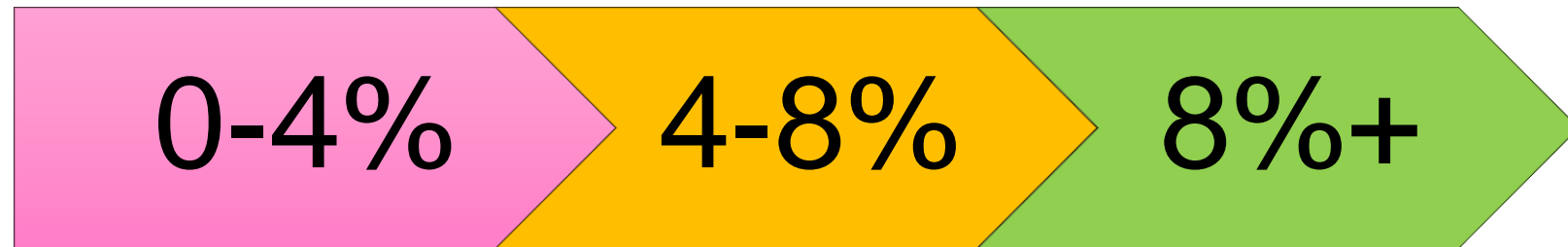
Fetal fraction



Fetal fraction thấp sẽ làm tăng kết quả âm tính giả.

Thomas Musci, MD

Prenatal Perspectives. Volume 1, No.2 2013.



Fetal fraction quá thấp để báo cáo

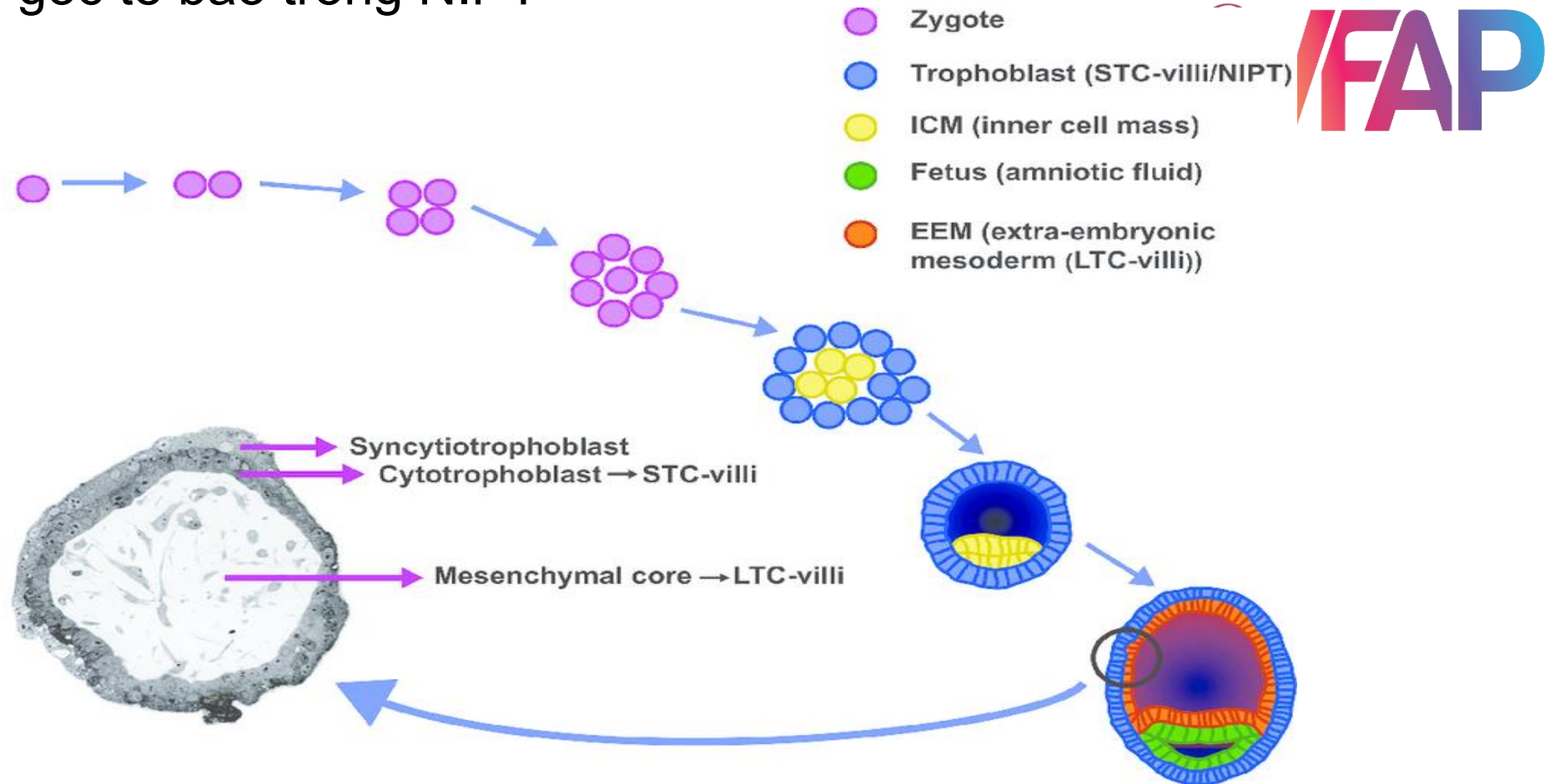
Fetal fraction trung bình - giảm độ nhạy với phương pháp đếm

Fetal fraction đủ để đạt hiệu suất tốt nhất

Các yếu tố có thể dẫn đến tỷ lệ thai nhi thấp là: Lấy mẫu quá sớm, rối loạn nhiễm sắc thể, béo phì của mẹ.

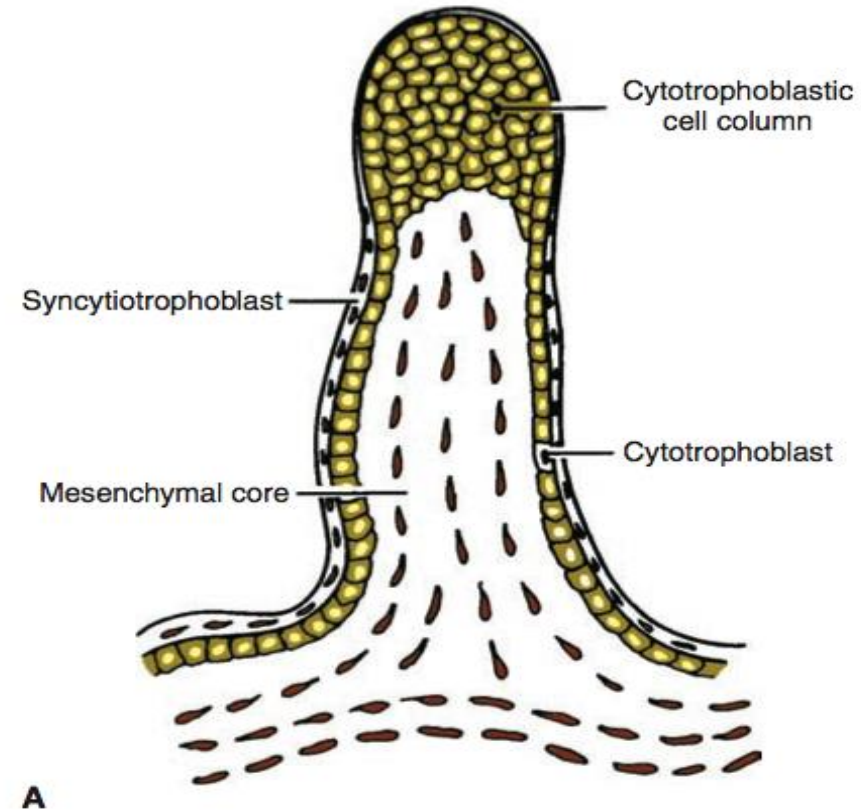
Thất bại xét nghiệm do tỷ lệ thai nhi thấp có liên quan đến việc tăng nguy cơ dị tật thai nhi (5%) Audibert et al. (2017). Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada.

Nguồn gốc tế bào trong NIPT



Sự phát triển phôi sớm từ hợp tử đến phôi nang. Cytotrophoblast trong CVS và NIPT có nguồn gốc từ trophoblast của phôi nang, trong khi lõi trung mô có nguồn gốc từ trung mô ngoại bào (EEM). Cả EEM và thai nhi đều có nguồn gốc từ khối tế bào bên trong (ICM) của phôi nang.

Các loại tế bào trong xét nghiệm CVS



- NIPT: cffDNA xuất phát từ tế bào cytotrophoblast
- Không nên xét nghiệm mẫu gai nhau khi NIPT nghi ngờ thể khảm

Chiến lược sàng lọc cho thai phụ



THAI PHỤ NÊN ĐƯỢC CUNG CẤP XÉT NGHIỆM
KHÔNG XÂM LẤN
THỰC HÀNH ACOG 2007
HƯỚNG DẪN ACMG 2009

Không muốn biết
thêm thông tin

Muốn biết thêm thông tin
nhưng không muốn rủi ro
thủ thuật xâm lấn

Thai phụ muốn biết
tất cả mọi thứ

Siêu âm chi tiết vẫn
được khuyến khích
cho tất cả bệnh
nhân bất kể quyết
định xét nghiệm
như thế nào.

Chọc ối
hoặc CVS

SÀNG LỌC		
Huyết thanh Sàng lọc	NIPT	
<i>11-13 tuần và/hoặc 15-22 tuần</i>	<i>≥ 9 tuần</i>	
<i>5%</i>	<i><1%</i>	
<u>2-3 điều kiện</u> <i>T21 T18 T13</i>	Nhiễm sắc thể! Các điều kiện <i>T21 T18 T13 Tam bội X,Y</i>	<u>Hội chứng vi mất đoạn**</u> <i>22q11.2 1p36 Angelman (rối loạn gene) Cri-du-chat Prader-Willi</i>

Kết Luận



- NIPT xét nghiệm cfDNA có nguồn gốc từ tế bào cytotrophoblast do đó có những hạn chế sinh học tương tự như xét nghiệm QF-PCR mẫu gai nhau
- Kết quả NIPT dương tính: cân nhắc chọn lựa chọc ối hoặc sinh thiết gai nhau (QF-PCR)
- Kết quả NIPT nghi ngờ thể khảm: chọc ối (FISH)
- Kết quả NIPT bình thường, siêu âm thai bất thường: chọc ối xét nghiệm Karyotype hoặc Microarray CGH để có kết quả chính xác



Thank you!