



HỘI NGHỊ SẢN PHỤ KHOA LẦN THỨ
VIỆT - PHÁP - CHÂU Á **22**
THÁI BÌNH DƯƠNG



ThS.BS. BÙI KIỀU YẾN TRANG

Khoa Xét Nghiệm Di truyền Y học

Bệnh viện Từ Dũ



KẾT CỤC THAI KỲ CỦA TRISOMY 13 BÁN PHẦN VÀ TRISOMY 13 THỂ KHẢM



Sử dụng các kỹ thuật di truyền

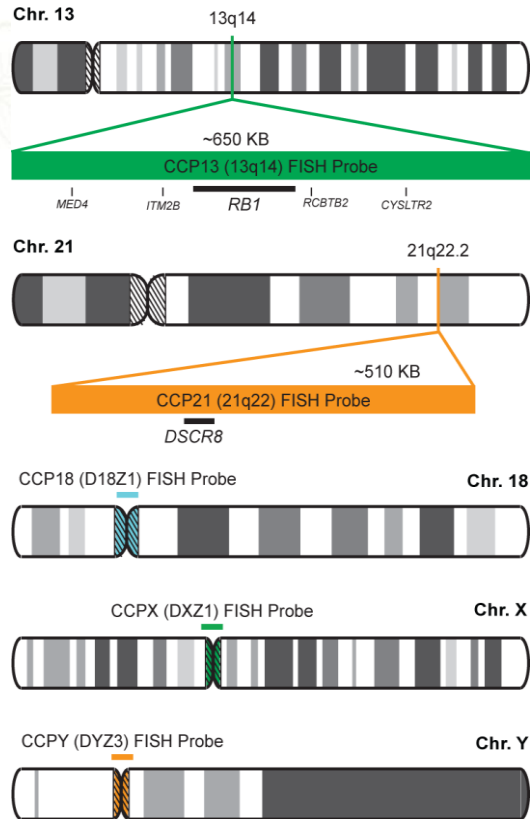
- * **Karyotype** : di truyền tế bào, phát hiện bất thường số lượng, khả năng, cấu trúc của bộ NST
- * **FISH** (Fluorescence in situ hybridization): chuyển tiếp giữa di truyền tế bào và di truyền phân tử, phát hiện bất thường số lượng NST 13, 18, 21, X, Y.
- * **QF-PCR** : di truyền phân tử, phát hiện số lượng NST 13,18,21, X,Y.
- * Kỹ thuật xét nghiệm và phân tích kết quả? Vì sao cần phối hợp nhiều kỹ thuật chẩn đoán cùng lúc?

Karyotype (nhiễm sắc thể đồ)

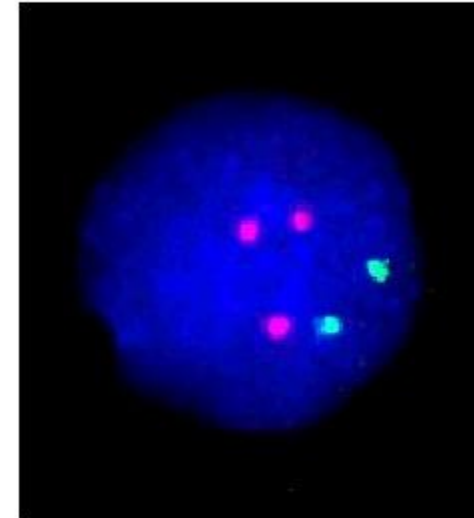
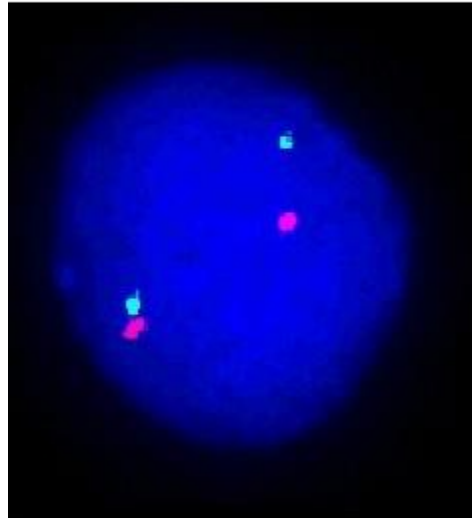
- Nhiễm sắc thể đồ băng G phổ biến nhất
 - Độ phân giải 550 băng NST
 - Mỗi băng có kích thước 5-10 Mb
 - Dịch ối được cho vào hai lọ nuôi cấy với môi trường Ammiomax, FCS,... để kích thích các tế bào ối phát triển.
 - Khi các cụm tế bào đủ lượng, tiến hành thu hoạch và nhuộm băng G và lập Karyotype. Phân tích và so sánh trên hệ thống Cytovision đánh giá các biến đổi NST về số lượng, cấu trúc



Fluorescence in situ hybridization



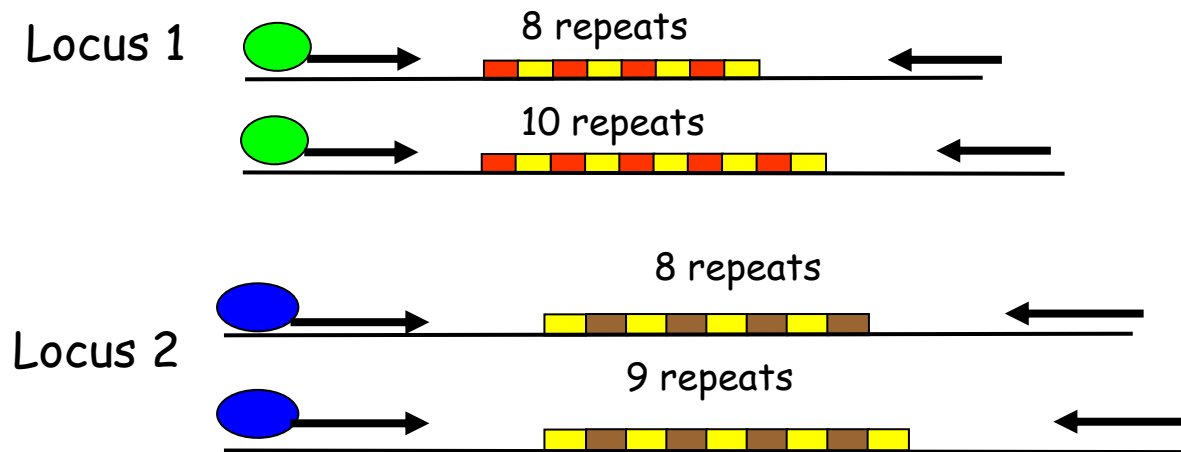
Green: Chromosome 13
Red: Chromosome 21



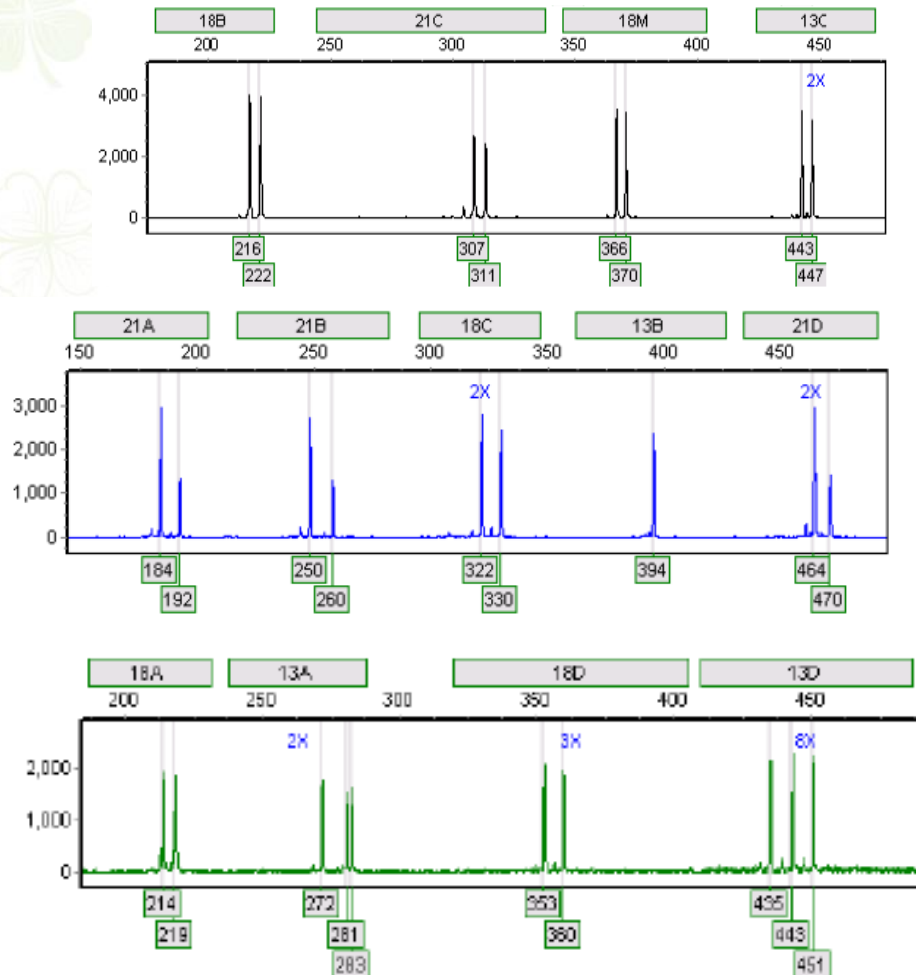
QF-PCR (Quantitative Fluorescent PCR)

- QF-PCR là kỹ thuật PCR dùng để khuếch đại các đoạn DNA ngắn đặc hiệu NST có đánh dấu bằng tín hiệu huỳnh quang và định lượng bằng điện di mao quản trên hệ thống máy giải trình tự gen ABI 3500.
- Khảo sát lệch bội các NST: 21, 18, 13, X, Y
 - Phát hiện ngoại nhiễm tế bào mẹ, khảm > 10%
 - Khảo sát nhiều locus STR trên mỗi NST

Khuếch đại các STR đặc trưng cho NST bằng các mồi gắn huỳnh quang



PHÂN TÍCH KẾT QUẢ QF-PCR

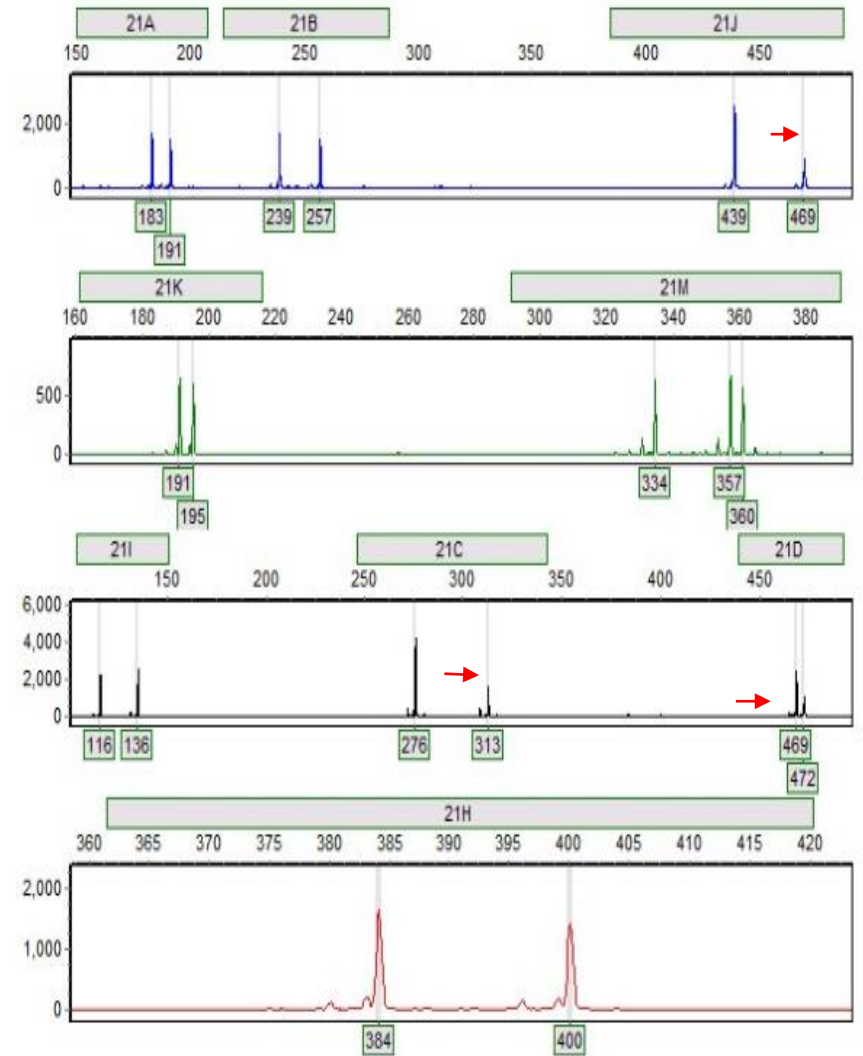


Bình thường

Trisomy 21

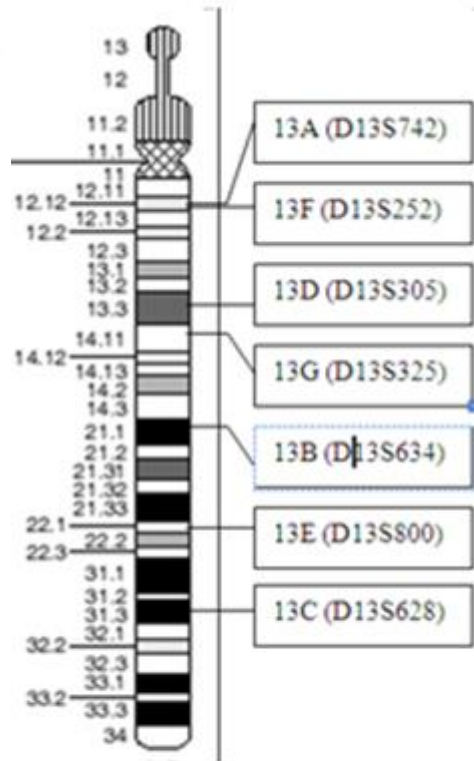
Trisomy 13

- KQ bình thường thể hiện 2 alen bằng nhau (tỉ lệ 1:1)
- KQ trisomy thể hiện 2 alen với chiều cao alen này gấp đôi chiều cao alen kia (tỉ lệ 2:1 hoặc 1:2); hoặc thể hiện 3 alen bằng nhau (tỉ lệ 1:1:1)



Trisomy 21 partial

CHẨN ĐOÁN TRISOMY 13- QF-PCR



NST 13

STT	Kí hiệu	Tên Marker	Vị trí các NST	Độ dài (bp)
1	13A	D13S742	13q21.3	150-205
2	13B	D13S11	13q21.1	220-285
3	13C	D13S628	13q22.3	256-353
4	13D	D13S305	13q22.21	438-494
5	13E	D13S800	13q11.31	190-230
6	13F	D13S252	13q12.3	180-228
7	13G	D13S325	13q12.3	296-352

Ca lâm sàng 1: Trisomy 13 partial

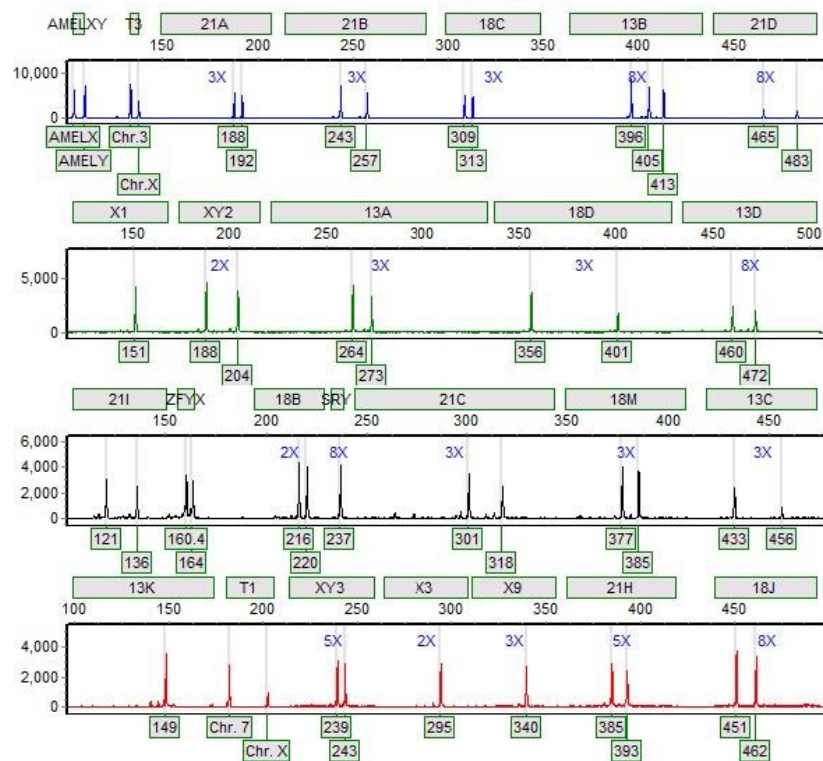
- Thai phụ NTQT, 27 tuổi, con so, thai 18,5 tuần, xét nghiệm NIPT kết quả nguy cơ cao Trisomy 13.
- Thai phụ được chọc ối ngày 28/06/2022. Xét nghiệm bằng kỹ thuật QF-PCR ghi nhận 3 alen ở 2 vị trí marker 13B và 13C (kết luận?).
- Mẫu máu của cha và mẹ thai được xét nghiệm QF-PCR. Kết quả ghi nhận các vị trí bất thường (13B, 13C) không được tìm thấy ở cha và mẹ thai.
- Siêu âm ngày 12/07/2022 phát hiện các bất thường ở thai: nếp gấp da gáy dày 7mm, tim to, tràn dịch màng tim, dẫn não thất 2 bên 12mm.

3 alen NST13 vùng 13A và 13B

Aneuploidy Analysis Report - SoftGenetics	
Sample: 499_D05_QF-AZF-30.06.2022_2022-06-30.fsa	
Software: GeneMarker V1.85	Analysis Type: Trisomy
Project: 496-506.476.SGF	Panel: Devyser_Compact_v3-edit
Operator:	Classification: Trisomy < 0.77 or Trisomy > 1.46
Report Time: 08/29/2022 - 15:04:56	Report Type: Peak Height Ratio
Exp Time: 06/30/2022 - 15:26:57 -> 06/30/2022 - 16:12:46	Plot: Corrected 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	2	264:273	1471:1131	1.17	
13B	3 (1:1:1)	396:405:413	1089:864:804		
13C	3 (2:1)	433:456	788:279	2.23	
13D	2	460:472	302:250	1.04	
13K	1	149	3607		
18B	2	216:220	2186:1998	1.01	
18C	2	309:313	1736:1550	1.05	
18D	2	356:401	1242:600	1.36	
18J	2	451:462	472:424	0.99	
18M	2	377:385	1340:1249	0.95	
21A	2	188:192	1875:1645	1.04	
21B	2	243:257	2461:1885	1.08	
21C	2	301:318	1151:832	1.06	
21D	2	465:483	266:192	1.12	
21H	2	385:393	585:491	1.09	
21I	2	121:136	3075:2482	1.02	
AMELXY	2	AMELX:AMEL	6469:7320	1.03	
SRY	1	237	517		
T1	3 (2:1)	Chr. 7:Chr. X	2855:916	3.12	
T3	3 (2:1)	Chr.3:Chr.X	7613:3965	1.74	
X1	1	151	4288		
X3	1	295	1453		
X9	1	340	908		
XY2	2	188:204	2335:1921	0.99	
XY3	2	239:243	622:582	1.02	
ZFYX	2	160.4:164	3393:2932	0.87	



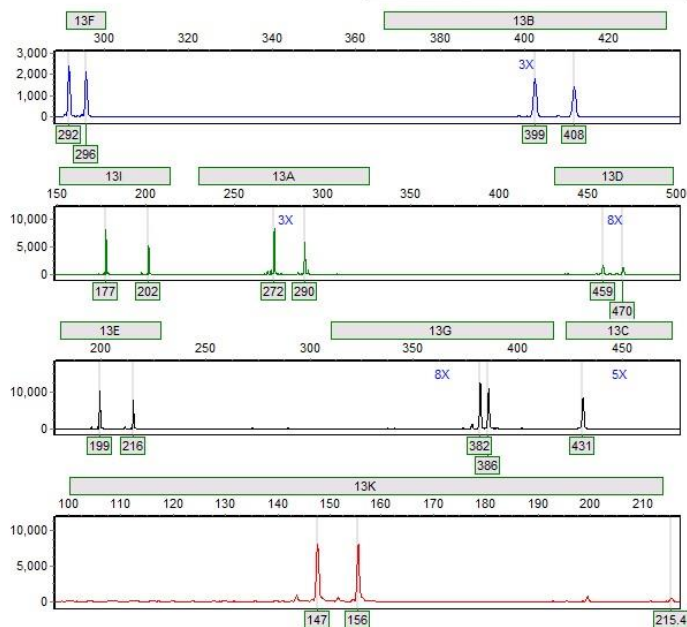
VAFAP

KẾT QUẢ KIỂM TRA NST 13 CHA VÀ MẸ

Aneuploidy Analysis Report - SoftGenetics			
Sample: S13-499AQF-11072022-TRANG2022-07-11-10-53-50.fsa			
Software: GeneMarker V1.85	Analysis Type: Trisomy		
Project: S13-499A,B.SGF	Panel: Devyser_13_new		
Operator:	Classification: Trisomy < 0.77 or Trisomy > 1.46		
Report Time: 08/29/2022 - 15:02:53	Report Type: Peak Height Ratio		
Exp Time: 07/11/2022 - 11:31:35 -> 07/11/2022 - 12:08:45	Plot: Corrected Peak Height Ratio, Selected Samples are Displayed		

Conclusion		
Comments:		
	Date	Initial
Authorization 1		
Authorization 2		

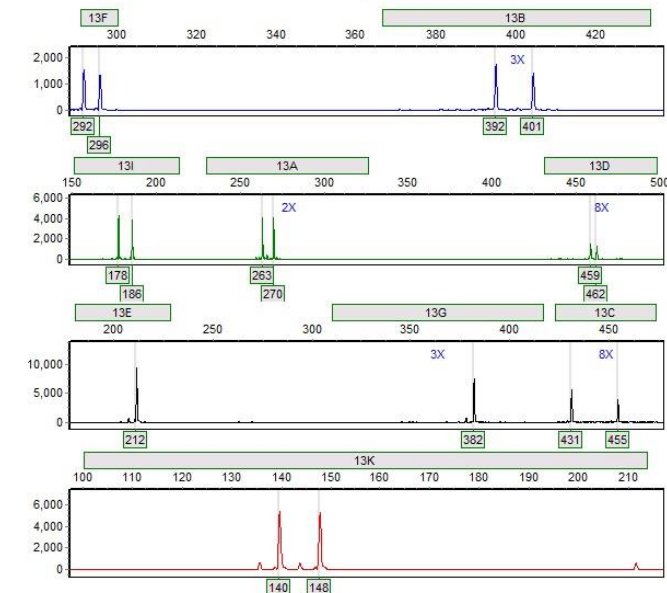
Marker	Alleles	Allele Length	Peak Height	Peak Ratio	Check
13A	2	272:290	2800:1939	1.44	
13B	2	399:408	595:475	1.25	
13C	1	431	1691		
13D	2	459:470	197:167	1.18	
13E	2	199:216	10396:7943	1.31	
13F	2	292:296	2374:2140	1.11	
13G	2	382:386	1565:1344	1.16	
13I	3 (2:1)	177:202	8168:5171	1.58	
13K	2	147:156	8129:8069	1.01	



Aneuploidy Analysis Report - SoftGenetics			
Sample: S13-499BQF-11072022-TRANG2022-07-11-10-53-50.fsa			
Software: GeneMarker V1.85	Analysis Type: Trisomy		
Project: S13-499A,B.SGF	Panel: Devyser_13_new		
Operator:	Classification: Trisomy < 0.77 or Trisomy > 1.46		
Report Time: 08/29/2022 - 15:02:53	Report Type: Peak Height Ratio		
Exp Time: 07/11/2022 - 11:31:35 -> 07/11/2022 - 12:08:45	Plot: Corrected 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	2	263:270	2017:2053	0.98	
13B	2	392:401	592:475	1.25	
13C	2	431:455	689:486	1.42	
13D	2	459:462	180:166	1.08	
13E	1	212	9464		
13F	2	292:296	1550:1342	1.15	
13G	1	382	2470		
13I	2	178:186	4279:3805	1.12	
13K	2	140:148	5372:5283	1.02	



Kiểu hình của Trisomy 13 bán phần?

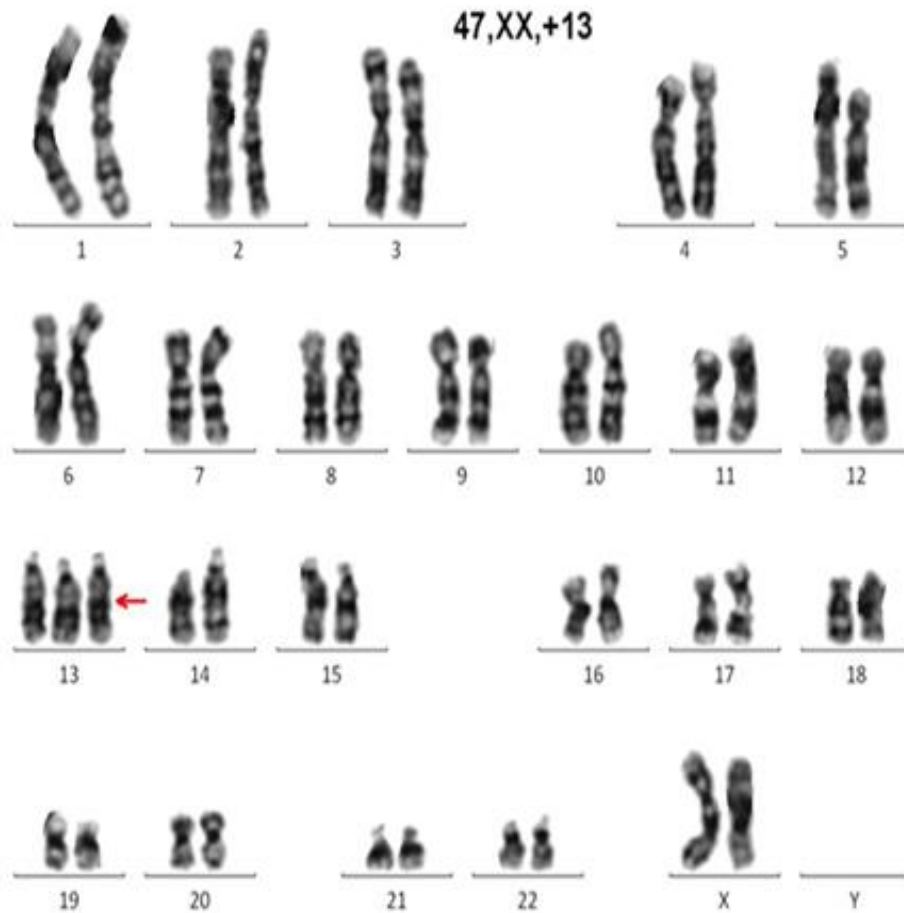
References	Duplication	Inheritance	Clinical features
Krygier et al.	13q31.1qter		Learning difficulties, poor speech, facial dysmorphism, seizures, slightly developmental delay
Atack et al.	13q31.1q32.3		Developmental delay, learning disability, facial dysmorphic
Mathijssen et al.	13q21.31q31.1		Intellectual disability, developmental delay, dental abnormality, feeding problem, seizures, strabismus, behaviour problem
Mehra et al.	13q13qter	Maternal inv(13)(p12q31)	Intellectual disability, developmental delay, learning disability, facial dysmorphic
Fraccaro et al.	13q21q33.3	De novo	Trigonocephaly, low hair implantation, facial dysmorphic, bilateral clinodactyly of the fifth toes, psychomotor retardation
Habedank et al.	13q22qter	Maternal inv(13)(p11q21)	Psychomotor retardation, spastic diplegia of the legs, and myoclonic and akinetic seizures, facial dysmorphic, abnormal fingers and toes
Williamson et al.	13q22qter	Presumptive paternal inv(13)(p11q22)	Short stature, mentally retarded with ptosis, cleft soft palate, and polydactyly
Machado et al.	13q14qter	De novo	Cyanosis, hydropsy, hypotony, akinesia, and abdomen distension, short neck, and facial dysmorphism
Chen et al.	13q14.1qter	Paternal inv(13)(p12q14.1)	Intrauterine growth restriction and oligohydramnios, craniofacial dysmorphism, and camptodactyly of the right hand, bilateral subependymal cysts, left renal hydronephrosis, dilated coronary sinus with a persistent left superior vena cava, mild prominence of the left temporal horn
Zhuang et al.	13q14.11qter	Paternal inv(13)(p12q14.1)	Intellectual disability, motor and speech developmental delay, feeding problem, gastric perforation, seizures

Cần có thông tin di truyền của bố và mẹ, khảo sát chi tiết vùng lặp đoạn của thai.
Cần kết hợp kết quả siêu âm khi đưa ra quyết định.

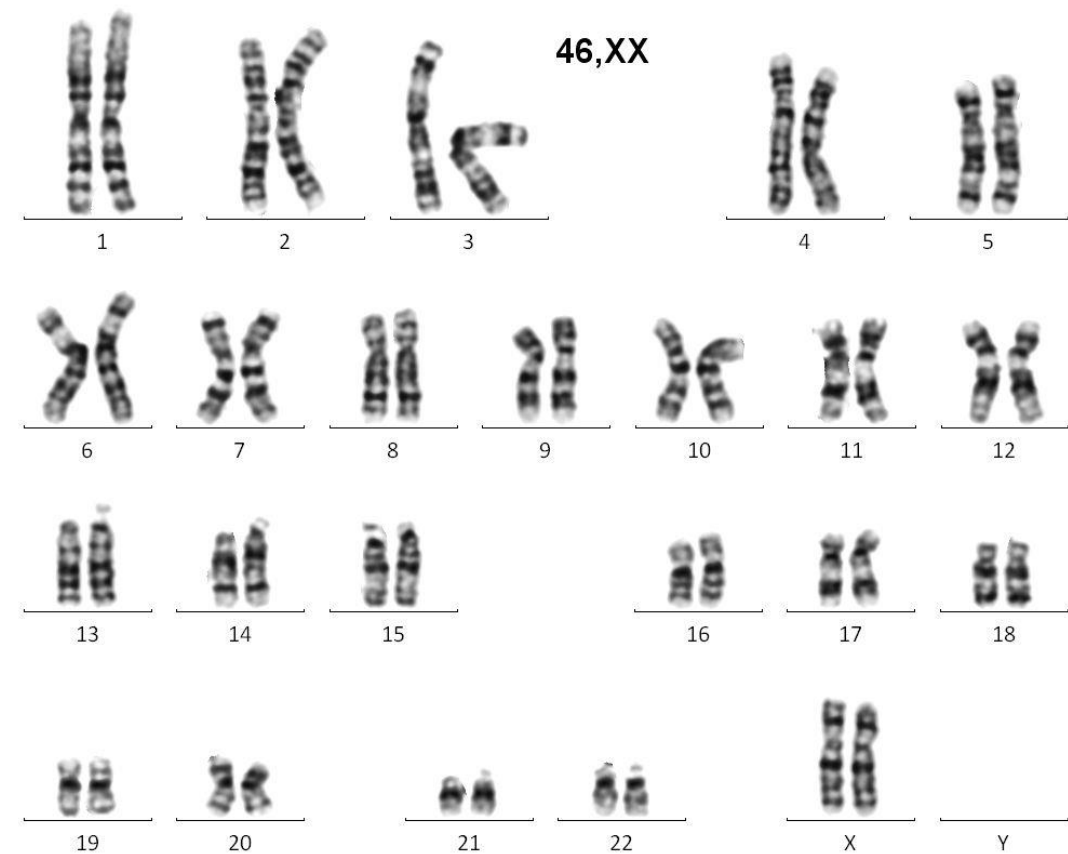
Ca lâm sàng 2: Trisomy 13 thể khảm

- Thai phụ NTT, 40 tuổi, siêu âm lúc thai 17 tuần phát hiện nốt echo dày tâm thất T kích thước 2,1mm.
- Thai phụ được chọc ối tại Bệnh viện Từ Dũ ngày 25/5/2022 xét nghiệm karyotype dịch ối. Kết quả nuôi cấy tế bào và lập bộ NST cho thấy thai có kiểu karyotype Trisomy 13: 47,XX,+13 thu hoạch được ở bình nuôi cấy A.
- Mẫu ối được xét nghiệm thêm bằng QF PCR để xác nhận chẩn đoán, tuy nhiên kết quả theo dõi thể khảm Trisomy 13 khoảng 20%.

Kết quả các dòng tế bào khác nhau ở các bình nuôi cấy



Kết quả Trisomy 13 thu hoạch được ở bình A



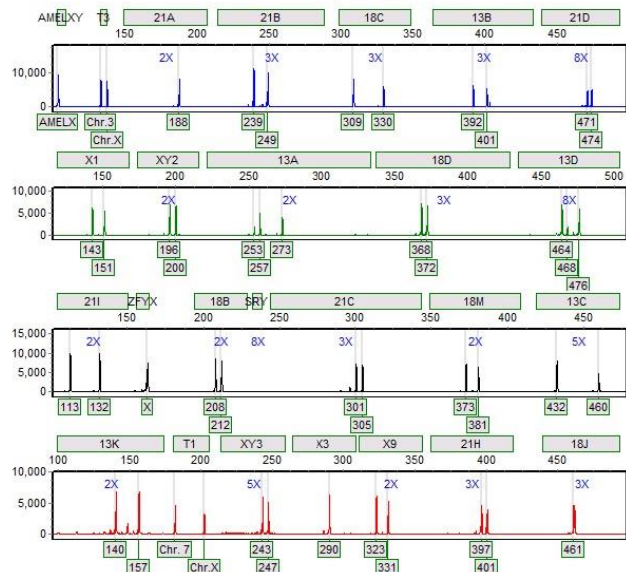
Kết quả khám thu hoạch được ở bình B:
47, XX,+13[42]/46,XX[9]

KẾT QUẢ QF-PCR MẪU ỔI TƯƠI

Aneuploidy Analysis Report - SoftGenetics			
Sample: C-K110-YT_F10_QF-220614-P_2022-06-14.fsa			
Software: GeneMarker V1.85	Analysis Type: Trisomy		
Project: C_220614_K110.SGF	Panel: Devyser_Compact_v3-edt		
Operator:	Classification: Trisomy < 0.77 or Trisomy > 1.46		
Report Time: 10/10/2022 - 09:12:12	Report Type: Peak Height Ratio		
Exp Time: 06/14/2022 - 14:12:00 -> 06/14/2022 - 14:57:48	Plot: Corrected Peak Height Ratio, Selected Samples are Displayed		

Conclusion		
Comments:		
	Date	Initial
Authorization 1		
Authorization 2		

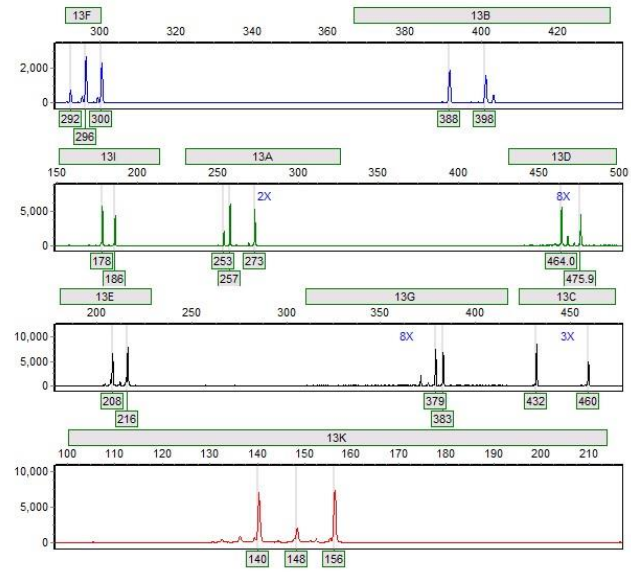
Marker	Alleles	Allele Length	Peak Height	Peak Ratio	Check
13A	3 (1:1:1)	253,257,273	907,2458,2007		
13B	2	392,401	2059,1720	1.20	
13C	3 (2:1)	432,460	1607,946	1.70	
13D	3 (1:1:1)	464,468,476	855,239,747		
13K	2	140,157	3397,3406	1.00	
18B	2	208,212	4306,3957	1.09	
18C	2	309,330	2655,2010	1.32	
18D	2	368,372	2405,2183	1.10	
18J	1	461	1551		
18M	2	373,381	3581,3240	1.11	
21A	1	188	3967		
21B	2	239,249	3869,3277	1.12	
21C	2	301,305	2419,2306	1.05	
21D	2	471,474	569,625	0.91	
21H	2	397,401	1527,1286	1.19	
21I	2	113,132	4906,5026	0.98	
AMELXY	1	AMELX	9182		
SRY	0				
T1	2	Chr. 7:Chr.X	4597,3259	1.41	
T3	2	Chr. 3:Chr.X	7587,7542	1.01	
X1	2	143,151	6088,5453	1.11	
X3	1	290	6251		
X9	2	323,331	3074,2630	1.17	
XY2	2	196,200	3471,3260	1.06	
XY3	2	243,247	1192,1031	1.16	
ZFYX	1	X	7577		



Aneuploidy Analysis Report - SoftGenetics			
Sample: S13-K110_C09_QF-10062022-TRANG_2022-06-10.fsa			
Software: GeneMarker V1.85	Analysis Type: Trisomy		
Project: S13-K110.SGF	Panel: Devyser_13_new		
Operator:	Classification: Trisomy < 0.77 or Trisomy > 1.46		
Report Time: 10/10/2022 - 09:11:01	Report Type: Peak Height Ratio		
Exp Time: 06/10/2022 - 13:54:49 -> 06/10/2022 - 14:51:20	Plot: Corrected Peak Height Ratio, Selected Samples are Displayed		

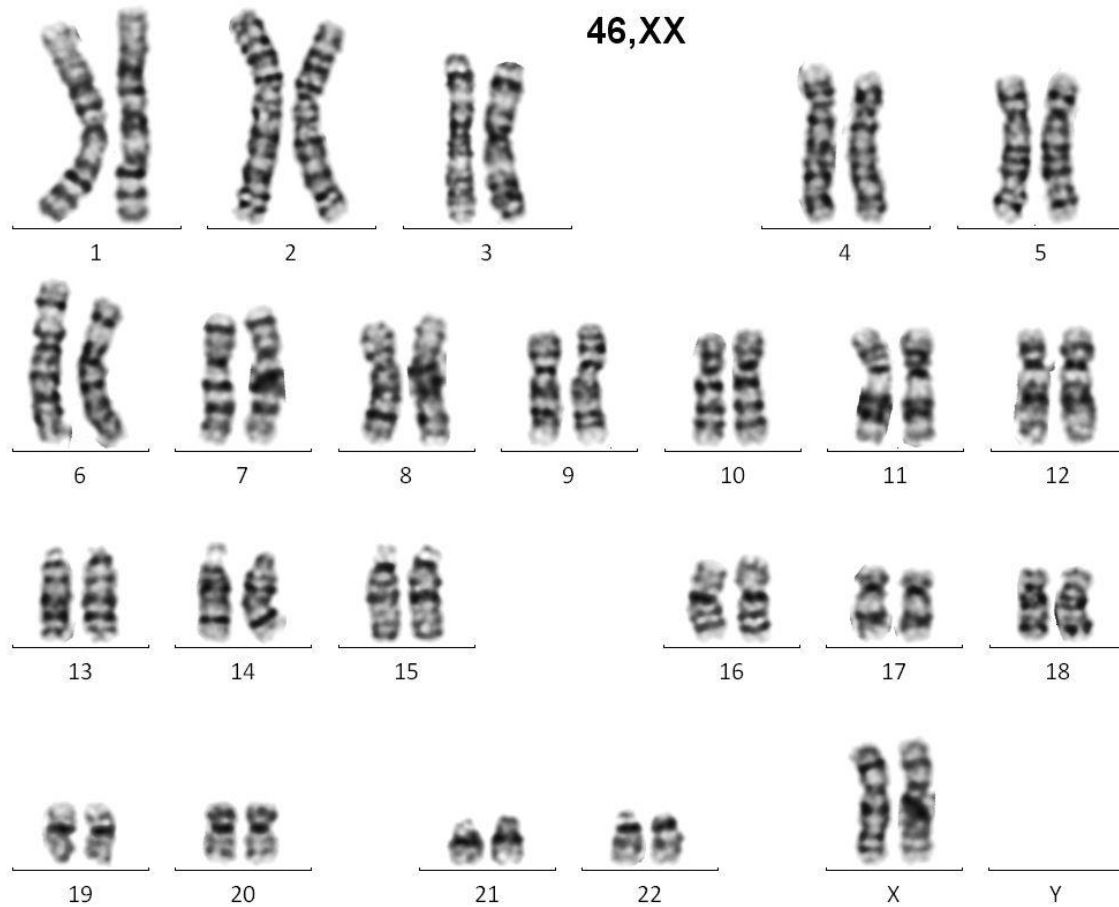
Conclusion		
Comments:		
	Date	Initial
Authorization 1		
Authorization 2		

Marker	Alleles	Allele Length	Peak Height	Peak Ratio	Check
13A	3 (1:1:1)	253,257,273	1027,2996,2644		
13B	2	388,398	1881,1584	1.19	
13C	3 (2:1)	432,460	2879,1855	1.74	
13D	2	464,0,475,9	688,564	1.22	
13E	2	208,216	6647,7994	0.83	
13F	3 (1:1:1)	292,296,300	769,2649,2290		
13G	2	379,383	949,849	1.12	
13I	2	178,186	5770,4323	1.33	
13K	3 (1:1:1)	140,148,156	7038,2036,7367		



Thể khảm Trisomy 13 khoảng 20-30%

Kết quả cấy tế bào máu cưỡng rốn

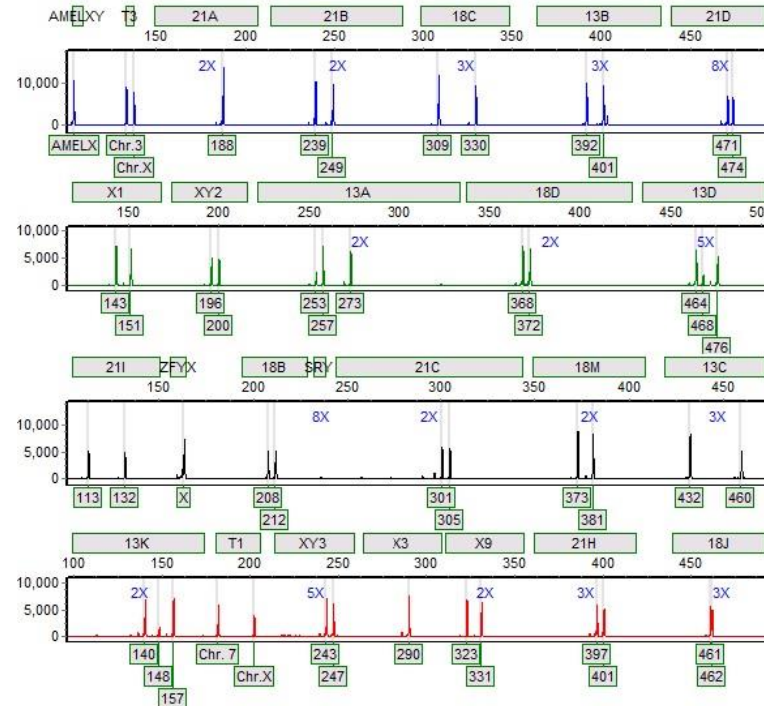


Kết quả QF-PCR máu cuống rốn

Aneuploidy Analysis Report - SoftGenetics	
Sample: C-K110-P_E10_QF-220614-P_2022-06-14.fsa	
Software: GeneMarker V1.85	Analysis Type: Trisomy
Project: C_220614_K110.SGF	Panel: Devyser_Compact_v3-edit
Operator:	Classification: Trisomy < 0.77 or Trisomy > 1.46
Report Time: 10/10/2022 - 09:12:12	Report Type: Peak Height Ratio
Exp Time: 06/14/2022 - 14:12:00 -> 06/14/2022 - 14:57:48	Plot: Corrected 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 (1:1:1)	253;257;273	1220;3622;3076		
13B	2	392;401	3367;3145	1.07	
13C	3 (2:1)	432;460	2786;1713	1.63	
13D	3 (1:1:1)	464;468;476	1301;381;1060		
13K	3 (1:1:1)	140;148;157	3465;887;3475		
18B	2	208;212	5245;5059	1.04	
18C	2	309;330	3969;3151	1.26	
18D	2	368;372	3542;3355	1.06	
18J	2	461;462	1891;1656	1.14	
18M	2	373;381	4453;4204	1.06	
21A	1	188	6826		
21B	2	239;249	5201;4897	1.06	
21C	2	301;305	3003;2805	1.07	
21D	2	471;474	864;839	1.03	
21H	2	397;401	1969;1708	1.15	
21I	2	113;132	5089;4931	1.03	
AMELXY	1	AMELX	10582		
SRY	0				
T1	3 (2:1)	Chr. 7;Chr.X	5962;3986	1.50	
T3	2	Chr. 3;Chr.X	9055;7793	1.16	
X1	2	143;151	7251;6684	1.08	
X3	1	290	7446		
X9	2	323;331	3446;3151	1.09	
XY2	2	196;200	5132;4759	1.08	
XY3	2	243;247	1430;1212	1.18	
ZFYX	1	X	7345		



Bài học kinh nghiệm: thai có khả năng thật sự?

- Chẩn đoán thể khả năng trong nuôi cấy tế bào nước ối: phức tạp.
 - Không đủ số lượng cụm NST được phân tích, thể khả năng không được phát hiện.
 - Dòng tế bào bất thường có thể phát sinh trong nuôi cấy dài ngày.
- Có 3 mức độ khả năng trong nuôi cấy karyotype
 - Độ I được xác định khi chỉ có một tế bào bất thường đơn lẻ
 - Độ II được xác định khi có nhiều tế bào có cùng bất thường trong một flask hoặc falcon đơn lẻ
 - Độ III được xác định khi có nhiều tế bào có cùng bất thường ở nhiều flask hoặc falcon khác nhau và thường được coi là khả năng thật sự.
- *Khả năng mức độ I đã được quan sát thấy ở 5% các mẫu nước ối nuôi cấy và được báo cáo là không có ý nghĩa lâm sàng.*

Báo cáo của Nguyễn Thị Huyền trường ĐH Y Hà Nội (Tạp chí KHCVN)

Ca bệnh	TH1	TH2	TH3	TH4	TH5
Tuần thai	18	18	19	19	17
Chỉ định chọc ối	Nguy cơ Down 1/203	Nguy cơ Down 1/106	Nguy cơ Down 1/116	Nguy cơ Down 1/210	Nguy cơ Down 1/92
Karyotype flask 1	45,X[23]/47,XYY[22]	46,XY[28]/46,XX[24]	46,XY,t(4;6;11) (p15.2;p21.1;p15) [3]/46,XY[48]	46,XY,t(1;2)(q12;q310) [5]/46,XY[50]	46,XY,t(1;5)(p36.3;q31) [4]/46,XY[93]
Karyotype flask 1	45,X[15]/47,XYY[16]	46,XY	46,XY	46,XY	46,XY,t(1;5)(p36.3;q31) [3]/46,XY[70]
QF-PCR mẫu ối tươi	Không phát hiện bất thường các NST khảo sát	Không phát hiện bất thường các NST khảo sát	Không phát hiện bất thường các NST khảo sát	Không phát hiện bất thường các NST khảo sát	Không phát hiện bất thường các NST khảo sát
Karyotype sau sinh	47,XYY[60]/46,XY[60]	46,XY	46,XY	46,XY	46,XY

Kiểu hình của thể khảm Trisomy 13?

Wallerstein	Khảm > 50%	Khảm < 50%
Tổng số	10 ca	15 ca
Bất thường	6 ca (60%)	4 ca (26,7%)

- ✓ Thể khảm Trisomy 13 xảy ra 5% các trường hợp Trisomy 13 và kiểu hình ít nghiêm trọng hơn, thay đổi từ bình thường đến bất thường hoàn toàn, tùy theo phân bố ở các mô, cơ quan.
- ✓ Wallerstein: Trong các trường hợp thai bất thường, tỷ lệ khảm Trisomy 13 là 58% , những trường hợp sinh ra bình thường, tỷ lệ khảm trung bình của Trisomy 13 là 9,3% .
- ✓ Chen và cộng sự. đã báo cáo hai trường hợp chọc ối cho thấy trisomy 13 khảm mức 77,4% (24/31 khuẩn lạc) và 78,3% (36/46 khuẩn lạc) có kiểu hình bình thường lúc sinh.
- ✓ - Không có mối tương quan rõ ràng giữa tỷ lệ phần trăm tế bào thể tam nhiễm 13 và mức độ chức năng trí tuệ, và các dị tật của hội chứng Patau.

Wallerstein R, Yu M-T, Neu RL, Benn P, Lee Bowen C, Crandall B, et al.

Common trisomy mosaicism diagnosed in amniocytes involving chromosomes 13, 18, 20 and 21: karyotype-phenotype correlations. Prenat Diagn 2000

Kết luận

- Khảm NST và Trisomy bán phần trong chẩn đoán trước sinh: khó khăn trong tiên lượng di truyền của thai.
- Mức độ khảm không có sự tương quan tỷ lệ với biểu hiện kiểu hình của thai.
- Cần đánh giá NST ở ít nhất 2 lần tế bào nuôi cấy độc lập với một mẫu dịch ối.
- Cần kết hợp các xét nghiệm Karyotype, QF-PCR để loại trừ trường hợp khảm chỉ xuất hiện trong quá trình nuôi cấy dài ngày
- Tư vấn di truyền trước sinh khảm NST, Trisomy bán phần cần phối hợp các kết quả siêu âm, lâm sàng để tiên lượng bệnh.
- Khảo sát kiểu gen, NST của cha, mẹ khi cần thiết để tìm mối liên quan kiểu gen – kiểu hình



Thank
you

FOR
LISTENING