

HỘI NGHỊ SẢN PHỤ KHOA VIỆT PHÁP 2018

ĐÁNH GIÁ KẾT QUẢ SÀNG LỌC TRƯỚC SINH PHÁT HIỆN HỘI CHỨNG DOWN TỪ DNA THAI TỰ DO TRONG HUYẾT TƯƠNG MẸ

Ths.Bs Hoàng Hải Yến

PGS.TS Nguyễn Duy Ánh

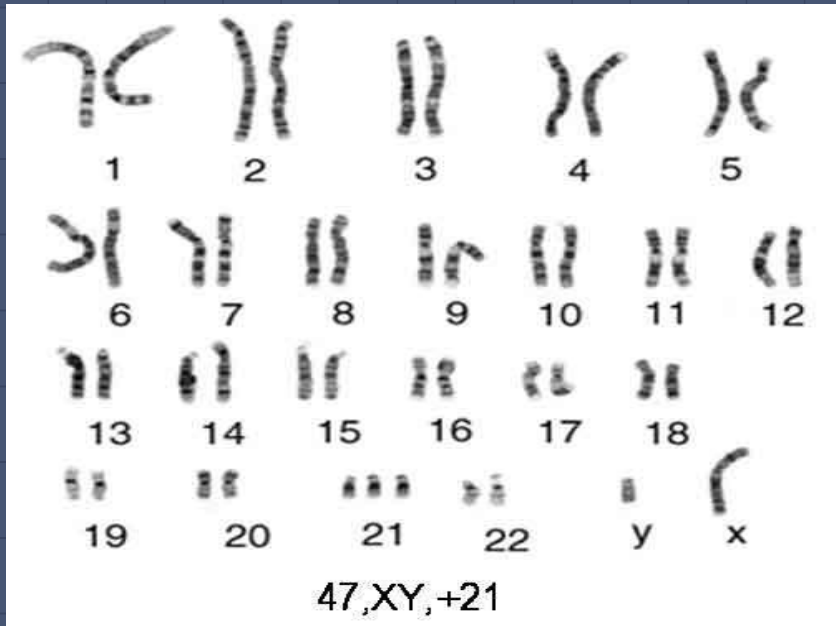
Bs Nguyễn Thúy Linh

GS.TS Tạ Thành Văn

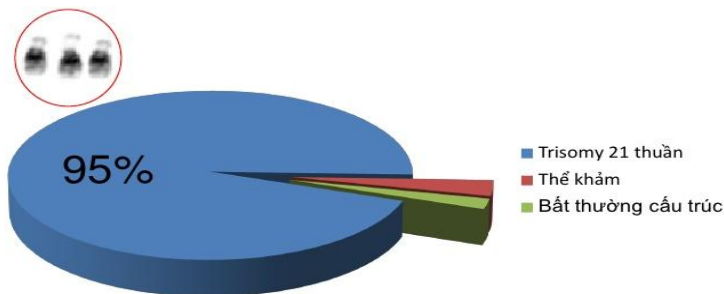
Bệnh viện Phụ sản Hà Nội

Trường Đại học Y Hà Nội

HỘI CHỨNG DOWN

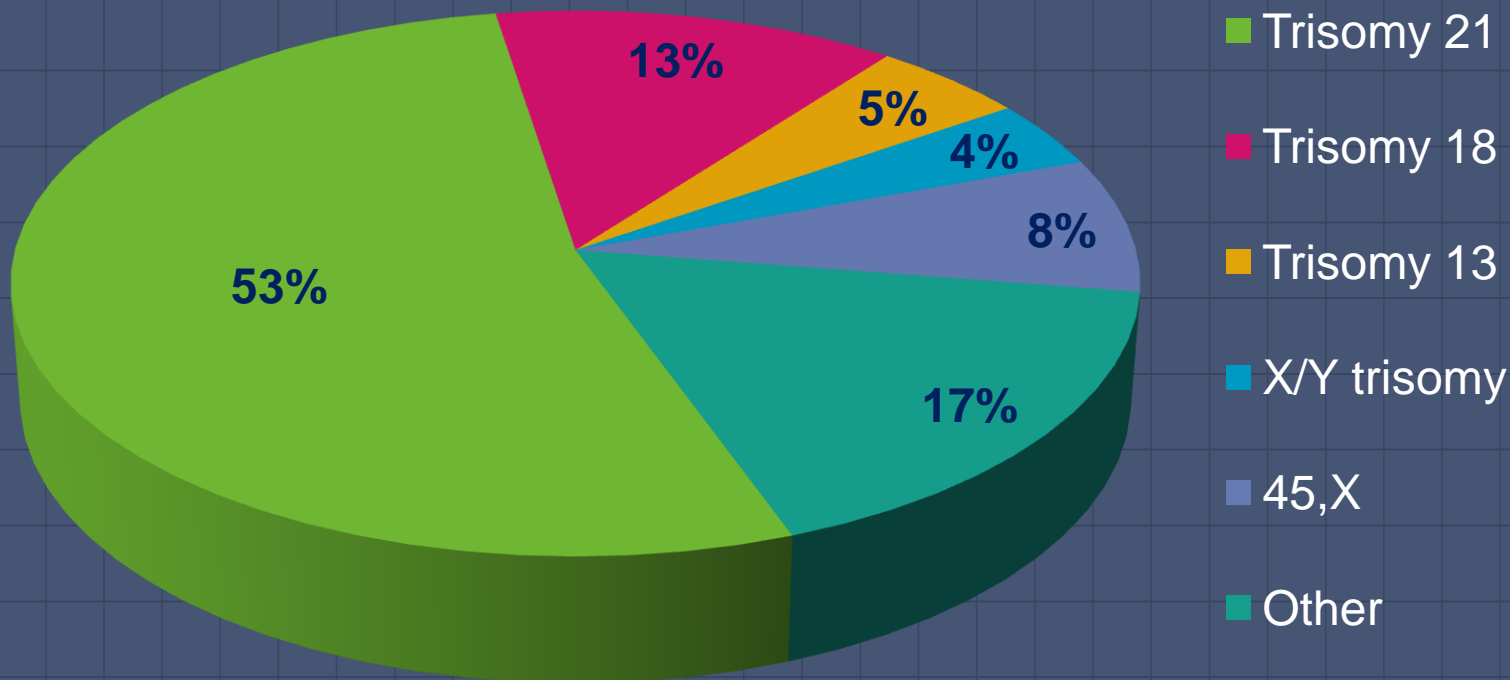


DI TRUYỀN TẾ BÀO



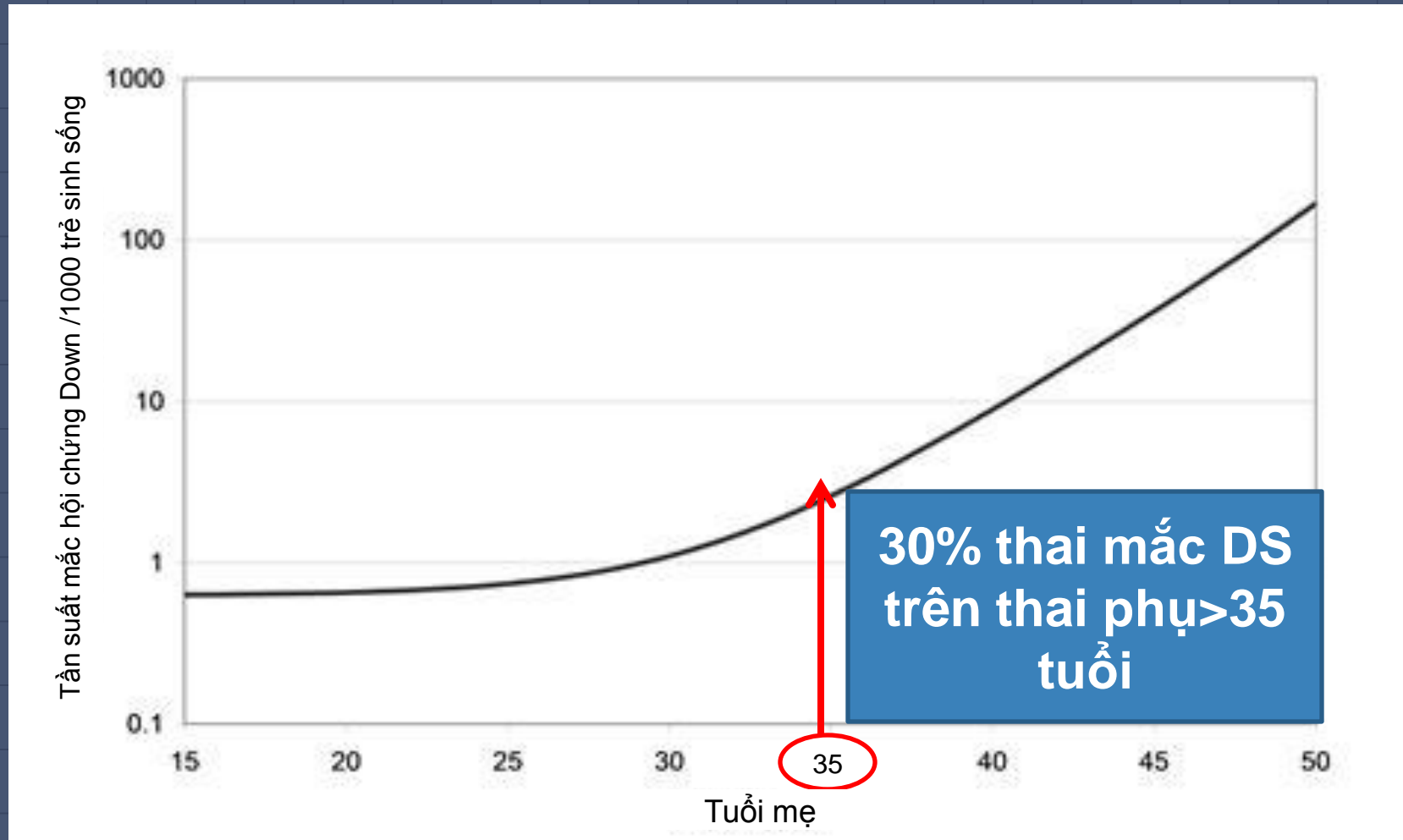
Bất thường NST thường gặp
Tần suất gặp: 1:700

TỶ LỆ BẤT THƯỜNG NST TRONG CĐTTS

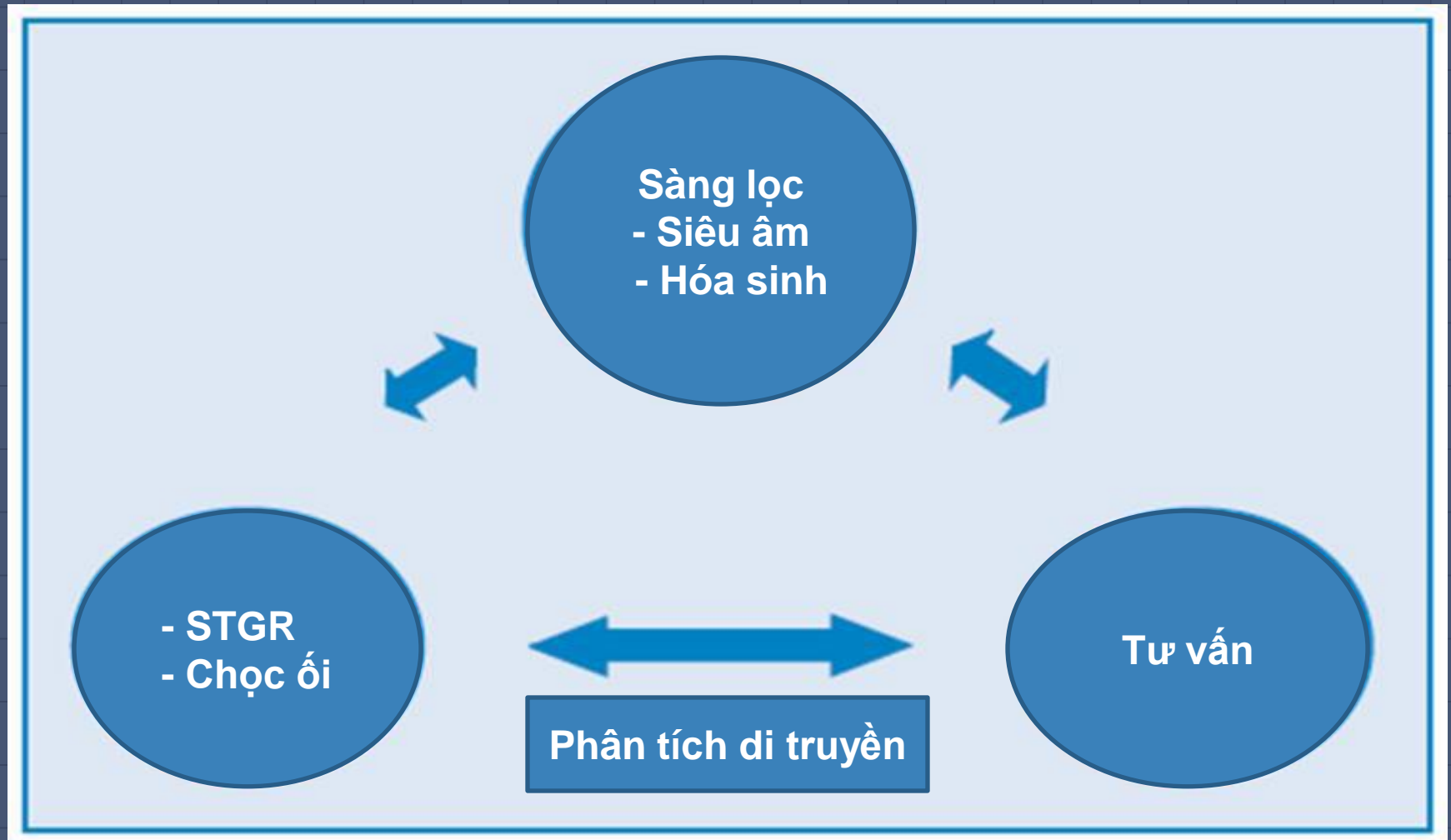


Diana Wellesley et al. Rare chromosome abnormalities, prevalence and prenatal diagnosis rates from population-based congenital anomaly registers in Europe. *European Journal of Human Genetics* (2012) **20**, 521–526

TỶ LỆ MẮC HỘI CHỨNG DOWN THEO TUỔI MẸ



SÀNG LỌC, CHẨN ĐOÁN TRƯỚC SINH HIỆN NAY

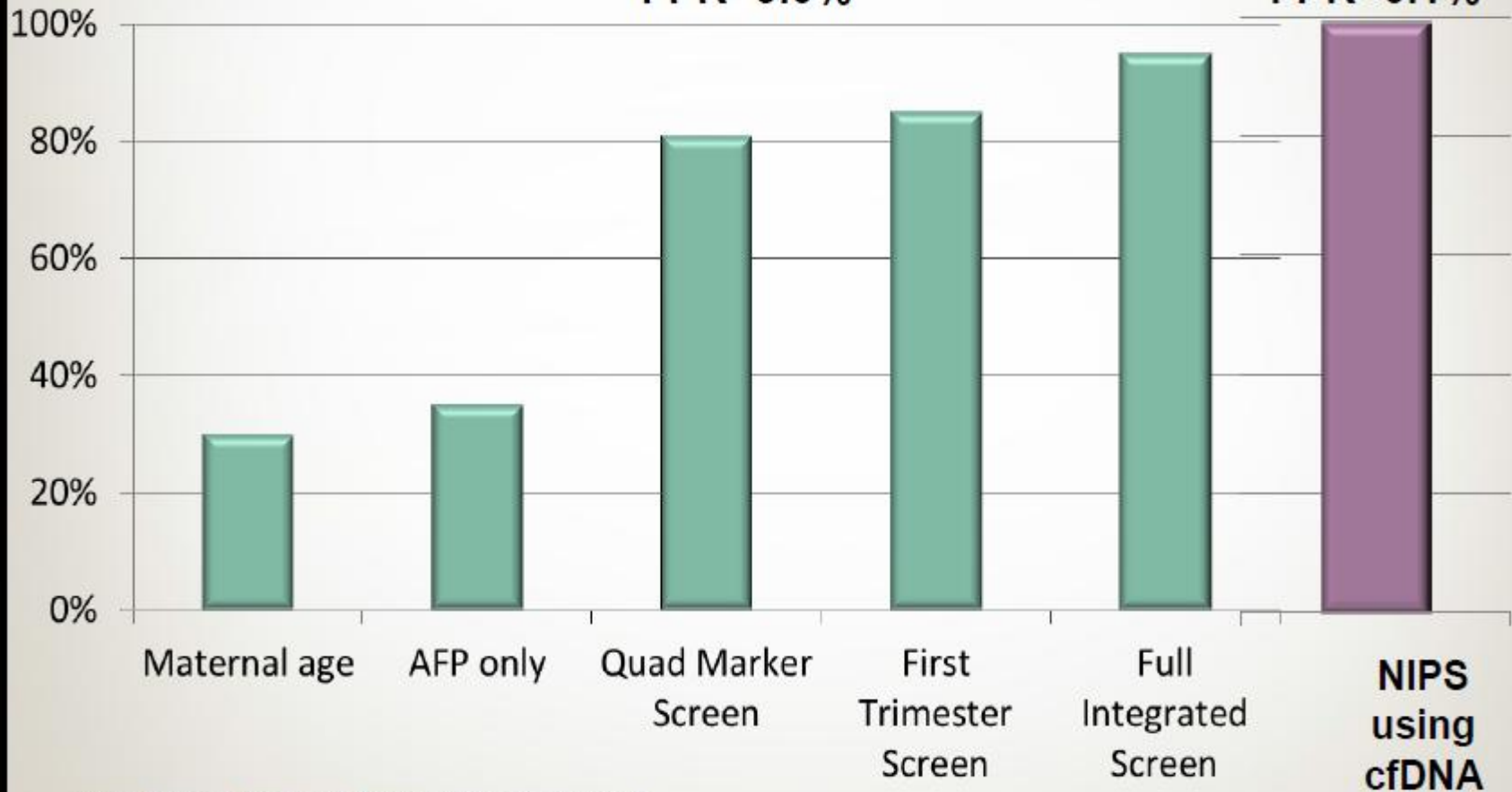


TỶ LỆ PHÁT HIỆN VÀ FPR HỘI CHỨNG DOWN

Detection rate for Down syndrome

FPR=5.0%

FPR<0.1%



TỶ LỆ SẢY THAI, THAI LƯU DO CVS/AC

Original Paper

The risk of fetal loss associated with invasive testing following combined first trimester risk screening for Down syndrome – a national cohort of 147 987 singleton pregnancies

Camilla Bernt Wulff^{1,2}, Thomas Alexander Gerds³, Line Rode^{1,4}, Charlotte Kvist Ekelund¹, Olav Bjørn Petersen⁵, Ann Tabor^{1,2} and the Danish Fetal Medicine Study Group

DOI: 10.1002/uog.15820

This article is protected by copyright. All rights reserved.



Tỷ lệ mất thai chung 0,86%
(0,55% sảy thai và 0,31%
thai lưu)



Wulff CB et al. Risk of fetal loss associated with invasive testing following combined first-trimester screening for Down syndrome: a national cohort of 147,987 singleton pregnancies. Ultrasound Obstet Gynecol. 2016 Jan;47(1):38-44. doi: 10.1002/uog.15820

Abstract Objectives

To prospectively assess the risk of fetal loss associated with chorion villus sampling (CVS) and amniocentesis (AC) following combined first trimester screening (cFTS).

Methods

A nationwide population-based study (Danish Fetal Medicine Database, 2008-2010) included 147987 singleton pregnant women who received cFTS. Propensity score stratification was used to assess the risk of fetal loss with and without invasive test.

Analyses were performed from 3 to 21 days after cFTS for CVS and from 28 to 42 days after cFTS for AC. Results were reported as average risk differences with 95% confidence limits.

Results

The risk of miscarriage and stillbirth was not higher in women exposed to CVS or AC compared with unexposed women independent of the analysis time point. The average effect of CVS on risk of miscarriage was -0.08% (95% CI: -0.64; 0.47) for 3 days and -0.21% (-0.58; 0.15) for 21 days, while the effect on risk of stillbirth was -0.18% (-0.50; 0.13) for 3 days and -0.27% (-0.58; 0.04) for 21 days after cFTS, respectively.

The analysis 28 days after cFTS showed a non-significant average effect of AC on risk of miscarriage of 0.56 % (-0.21; 1.33), while the effect of AC on risk of stillbirth was 0.09% (-0.39; 0.58) for 42 days after cFTS.

Conclusion

CVS or AC was not associated with increased risks of miscarriage and stillbirth. The findings of this study support that the procedure-related risk of CVS and AC is very low and correlates with the indication for the procedure.

SỰ RA ĐỜI CỦA GIẢI TRÌNH TỰ GEN THỂ HỆ MỚI

Giải trình tự 1 triệu – 43 tỉ đoạn DNA ngắn/ lần vận hành (GTT từng đoạn ngắn song song số lượng lớn _MPS)

Ý nghĩa: đơn giản hóa chẩn đoán bệnh di truyền đơn gen, lệch bội NST

2011: NIPS chính thức giới thiệu

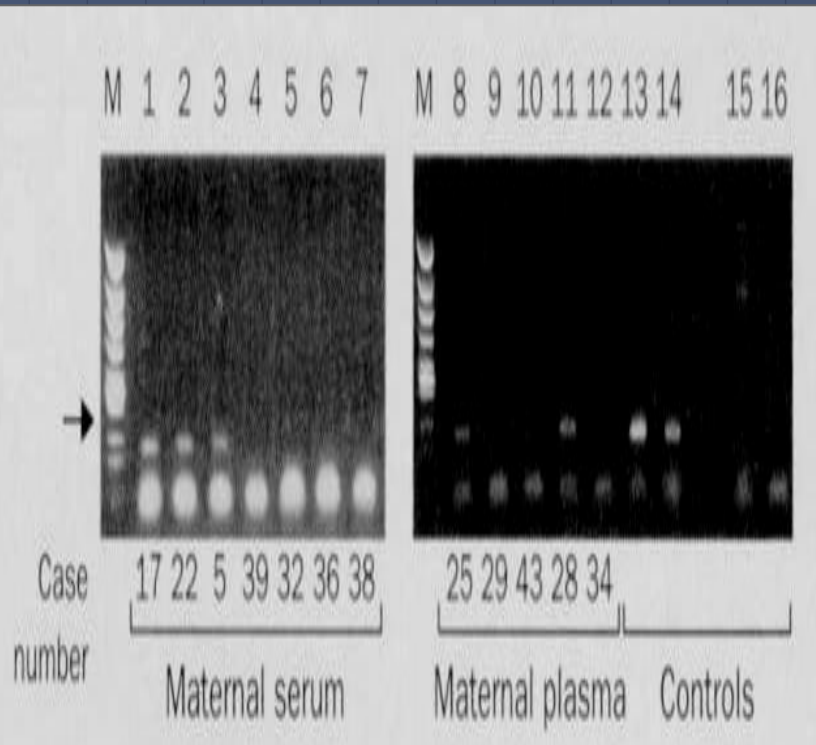
2008 detection of Trisomy 21

- **Chiu RW, Chan KC, Gao Y, et al. Noninvasive prenatal diagnosis of fetal chromosomal aneuploidy by massively parallel genomic sequencing of DNA in maternal plasma. Proc Natl Acad Sci USA 2008;105:20458-20463**
- **Fan HC, Blumenfeld YJ, Chitkara U, Hudgins L, Quake SR. Noninvasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood. Proc Natl Acad Sci USA 2008;105:16266-16271**

NONINVASIVE PRENATAL SCREENING (NIPS)



CƠ SỞ NIPS: DNA THAI TỰ DO (cffDNA)



PubMed.gov

US National Library of Medicine
National Institutes of Health

PubMed

Advanced

Abstract ▾

C R Seances Soc Biol Fil. 1948 Feb;142(3-4):241-3.

Les acides nucléiques du plasma sanguin chez l'homme.

[Article in Undetermined Language]

MANDEL P, METAIS P.

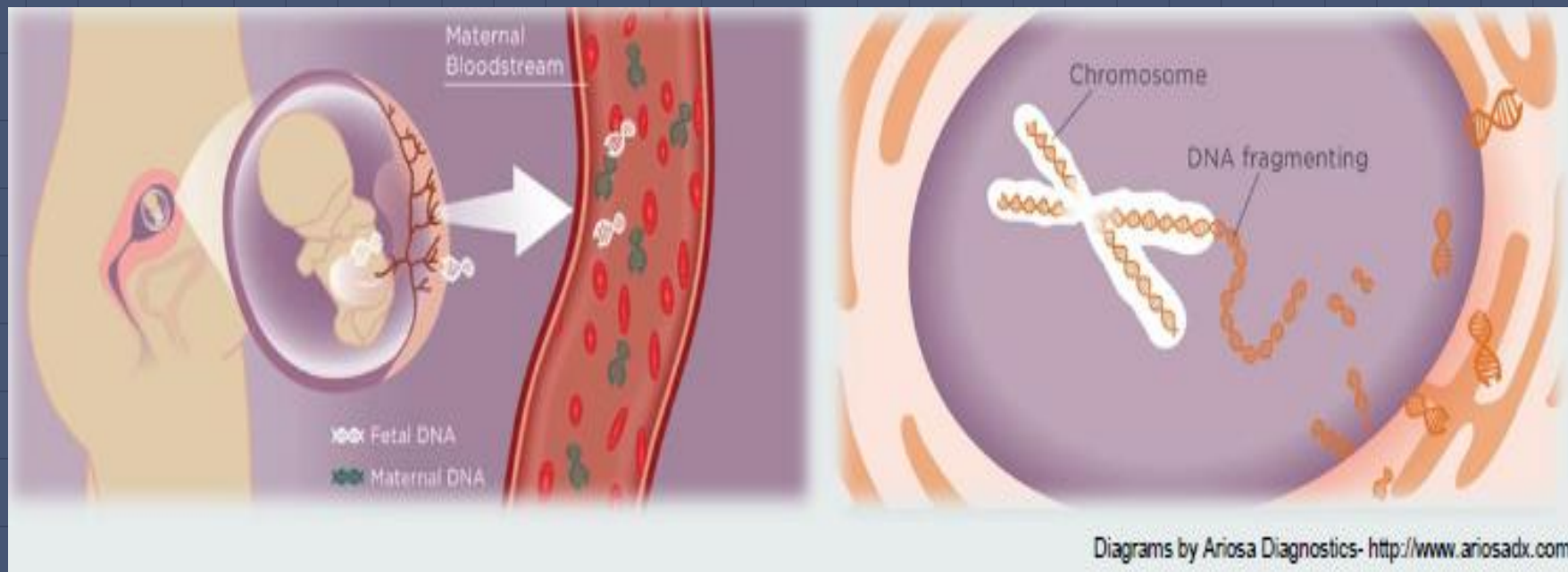
PMID: 18875018 [PubMed - indexed for MEDLINE]



10. Mandel P, Métais P. Les acides nucleiques du plasma sanguin chez l'homme. C R Seances Soc Biol Fil. 1948;143:241-3.

Lo et al. Lancet 1997; 350:485

CƠ SỞ NIPS: DNA THAI TỰ DO (cffDNA)



**Nguồn gốc: Tế bào rau thai
(cytotrophoblast).**

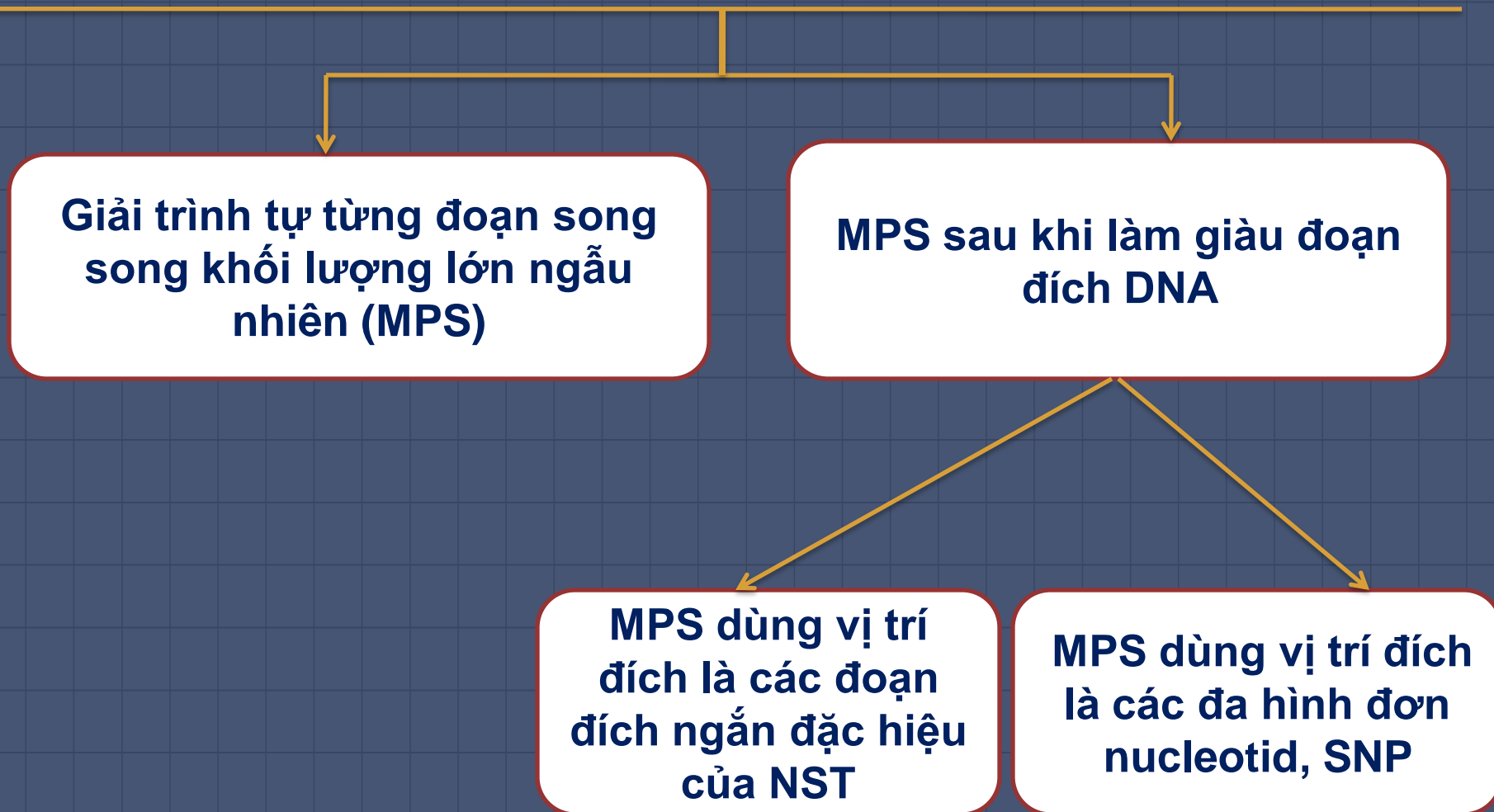
Đoạn DNA ngắn: 150-200 bp

Tăng dần theo tuổi thai: 3-13%

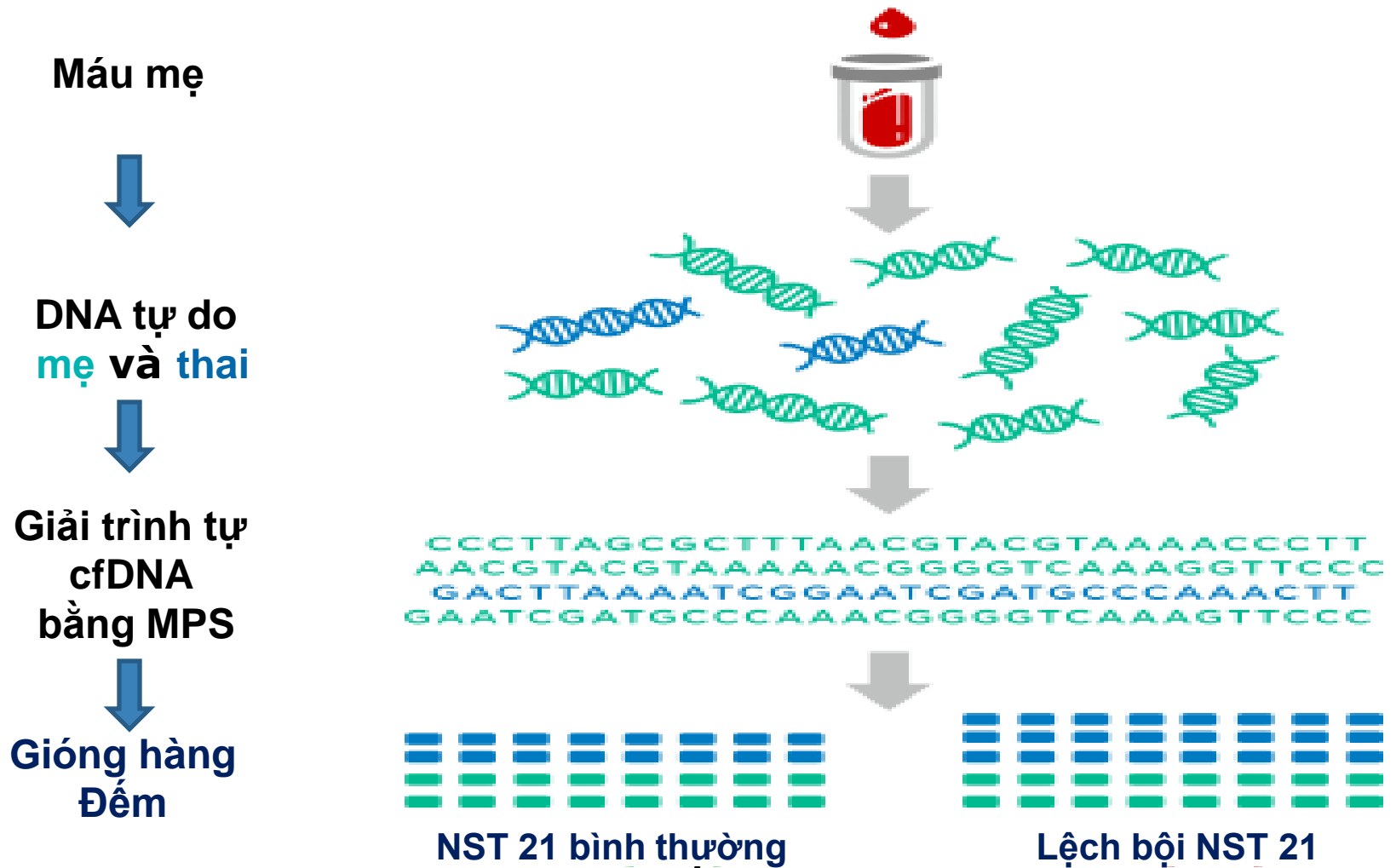
**Phát hiện trong máu mẹ từ 9-
10 tuần thai**

**Thời gian bán huỷ 16,3 phút,
mất sau sinh 2 giờ**

PHƯƠNG PHÁP PHÁT HIỆN cffDNA



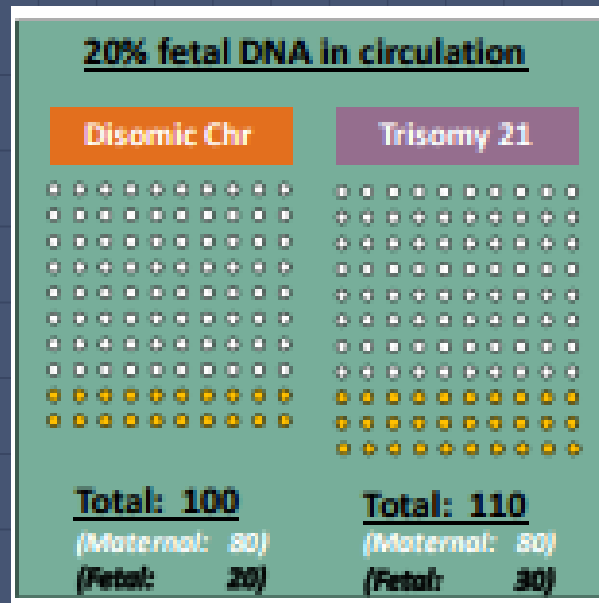
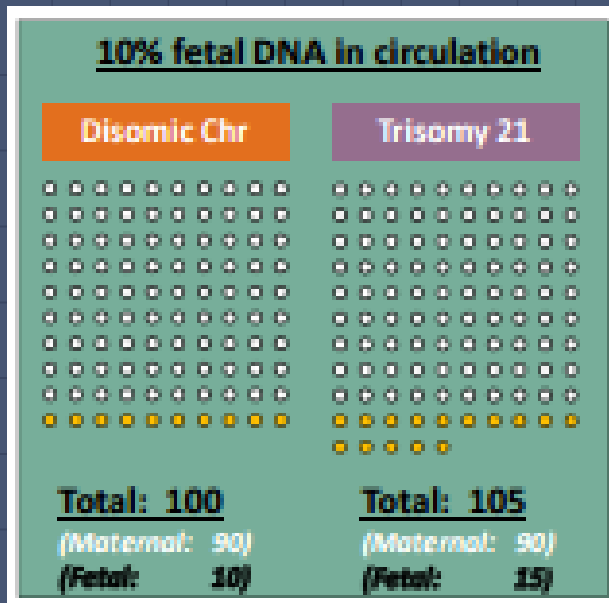
PHƯƠNG PHÁP MPS



TẦM QUAN TRỌNG CỦA cfDNA

Phát hiện trisomy trong huyết tương phụ thuộc vào lượng cfDNA

Lượng DNA thai trong máu mẹ càng cao, càng dễ phát hiện lệch bội



GIÁ TRỊ CỦA NIPS (37 NC, n=21.608)

LỆCH BỘI	n	DR (%)	FPR (%)
Trisomy 21	1.051	99,2	0,09
Trisomy 18	389	96,3	0,13
Trisomy 13	139	91	0,13
Monosomy X	177	90,3	0,23
Khác	56	93	0,14
Trisomy 21 (sinh đôi)		93,7	0,23

Giảm rủi ro

ACOG Committee Opinion on NIPT



- *“Cell free fetal DNA appears to be the most effective screening test for aneuploidy in high risk women... is one option that can be used as a primary screening test in women at increased risk of aneuploidy”*
- *“[NIPT] should be an informed patient choice after pretest counseling”*
- *“[NIPT] should not be offered to low-risk women or women with multiple gestations”*
- *“A patient with a positive test result should be referred for genetic counseling and should be offered invasive prenatal diagnosis for confirmation of test results.”*

Also supporting NIPT for high risk pregnancies:



➔ Đồng thuận với thai kỳ nguy cơ cao

MỤC TIÊU

Đánh giá kết quả sàng lọc trước sinh không xâm lấn (NIPS) phát hiện hội chứng Down từ DNA thai tự do trong huyết tương mẹ.

ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

Tiêu chuẩn lựa chọn

Thai đơn ≥ 10 tuần có từ 1 hay nhiều tiêu chuẩn sau:

- ❖ TM ≥ 35 tuổi.
- ❖ Kết quả triple test, combined test nguy cơ cao $> 1/250$.
- ❖ Siêu âm có bất thường hình thái.
- ❖ TS để con có lệch bội NST, thai chết lưu, sảy thai nhiều lần...
- ❖ Thai phụ đồng ý tham gia nghiên cứu

ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

Tiêu chuẩn loại trừ:

- ❖ Thai < 10 tuần, đa thai hoặc đa thai tiêu biến.
- ❖ Thai phụ đã thực hiện phẫu thuật cấy ghép hoặc trị liệu sử dụng tế bào gốc.
- ❖ Thai phụ được truyền máu trong vòng 30 ngày.
- ❖ Thai phụ mắc ung thư, thai phụ thực hiện IVF xin noãn.
- ❖ Thai phụ mang chuyển đoạn NST cân bằng, lệch bội NST.
- ❖ Thai phụ không đồng ý tham gia nghiên cứu

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu tiến cứu

Cỡ mẫu nghiên cứu: Mẫu toàn thể với số lượng 463 mẫu

Địa điểm nghiên cứu:

- Bộ môn Hóa sinh, Trường Đại học Y Hà Nội
- Trung tâm CĐTS, Bệnh viện Phụ sản Hà Nội

Thời gian nghiên cứu: 5/2016 – 3/2017

Xử lý số liệu: phần mềm SPSS 16.0, các thuật toán thống kê

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Mẫu bệnh phẩm: 10ml máu tĩnh mạch vào ống Streck

Dụng cụ nghiên cứu: TTCĐTS, BVPSHN

Hóa chất nghiên cứu:

- Hóa chất tách cfDNA tự động của Perkin Elmer.
- Hóa chất chuẩn bị mẫu và PCR phục vụ GTT của Thermo Fisher.
- Chip bán dẫn dùng cho GTT của Thermo Fisher.

SƠ ĐỒ NGHIÊN CỨU

463 thai phụ nguy cơ cao Trisomy 21

Lấy máu tĩnh mạch

Giải trình tự thế hệ mới NGS

Sàng lọc (z-score)

Nguy cơ cao T21

Nguy cơ thấp T21

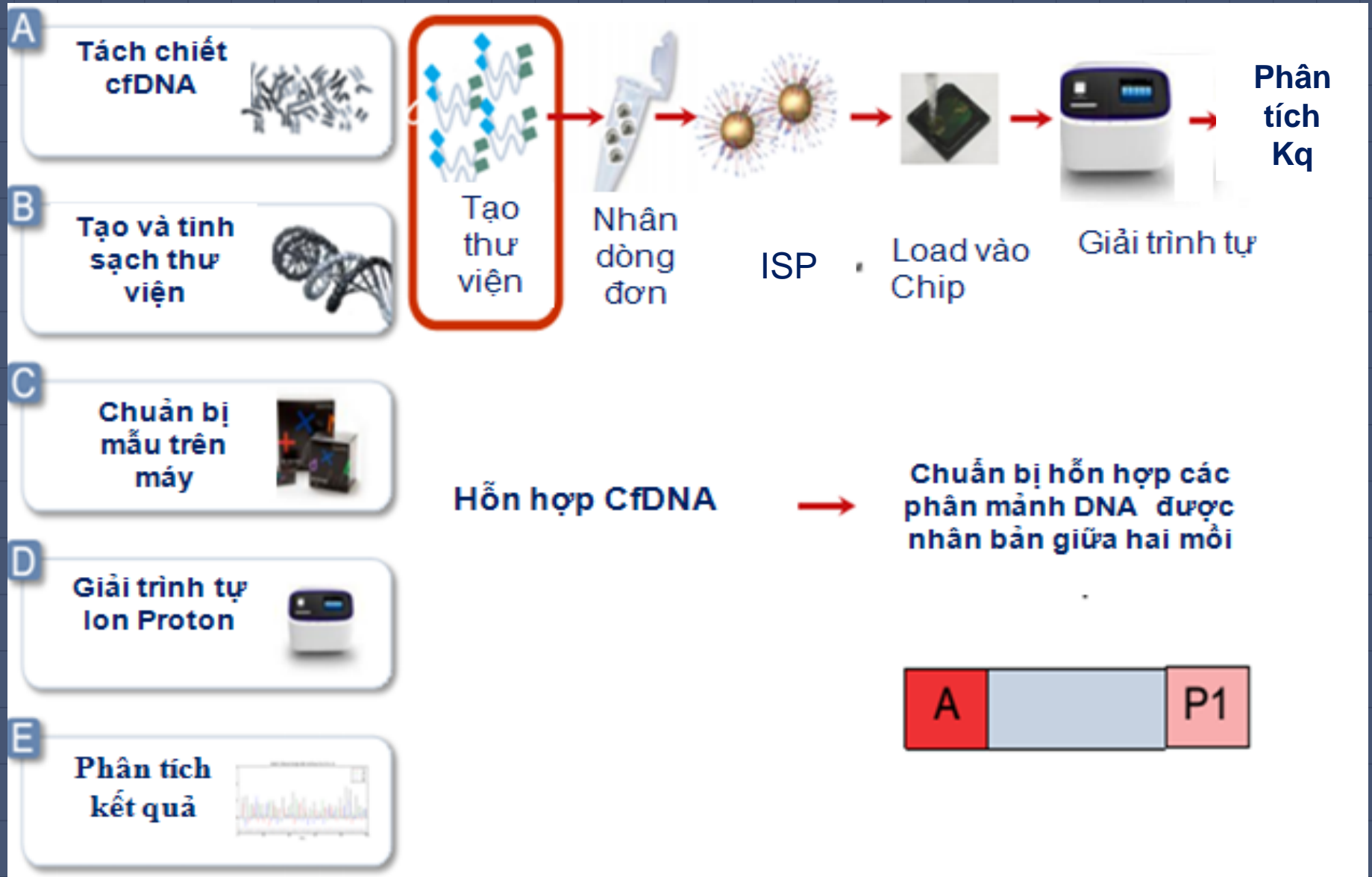
Chọc hút dịch ối (từ tuần 16)

Karyotype

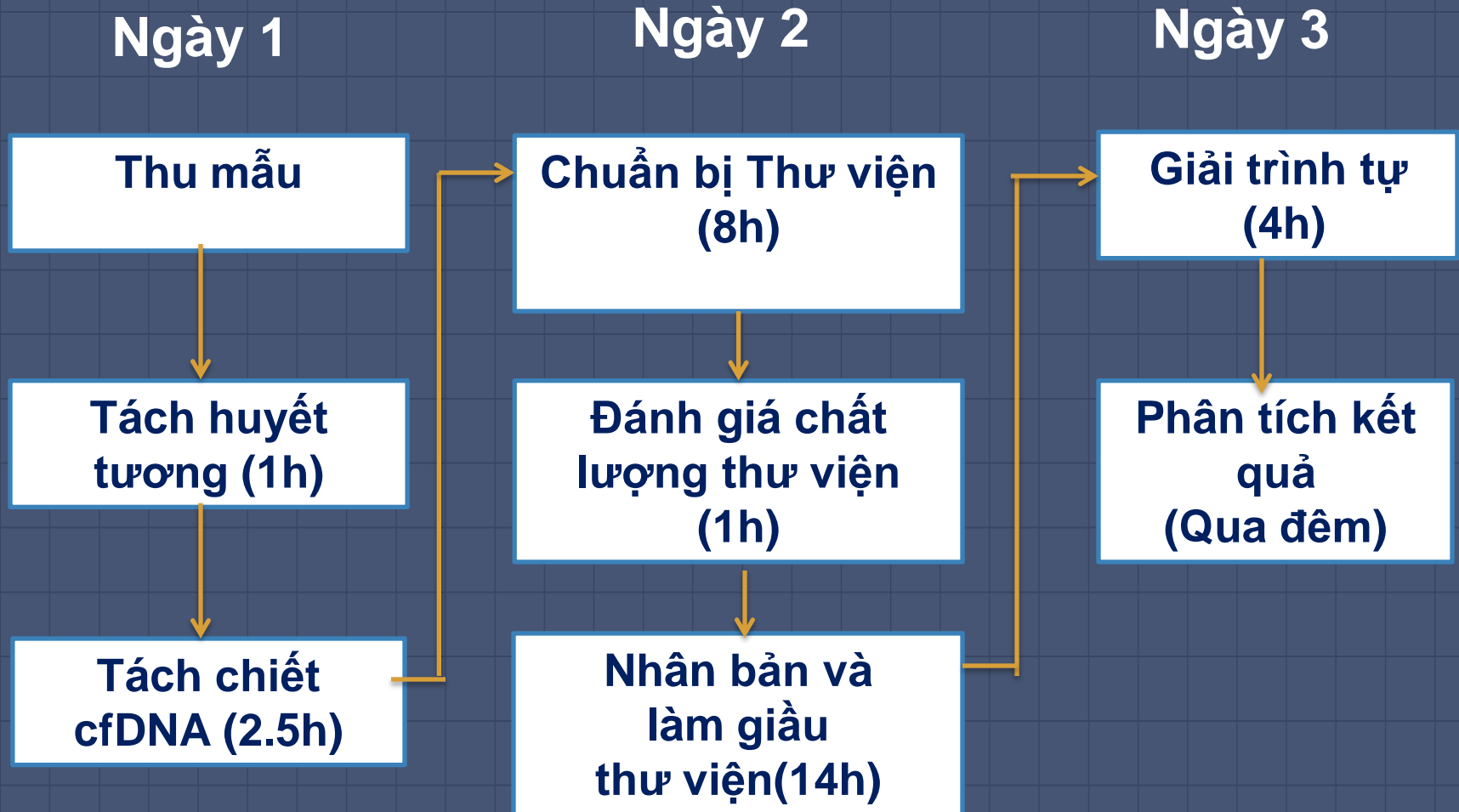
Theo dõi đến khi sinh

Kết luận

KỸ THUẬT SỬ DỤNG TRONG NGHIÊN CỨU



QUY TRÌNH GIẢI TRÌNH TỰ



KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

1. ĐẶC ĐIỂM ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

Đặc điểm tuổi thai phụ trong nghiên cứu

Tuổi thai phụ	Số lượng	
	n	%
18-24	20	4.32
25-29	102	22.03
30-34	113	24.41
35-39	165	35.64
≥ 40	63	13.6
Tổng	463	100
X ±SD	33.6 ± 5.4	
Giới hạn	19 - 46	

Shan Dan, Wei Wang, et al (2012). Clinical application of massively parallel sequencing-based prenatal noninvasive fetal trisomy test for trisomies 21 and 18 in 11105 pregnancies with mixed risk factors. *Prenatal Diagnosis*,

1. ĐẶC ĐIỂM ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

Đặc điểm tuổi thai tại thời điểm làm xét nghiệm NIPS

Tuổi thai	Số lượng		% cff DNA (\pm SD)
	n	%	
10-13 tuần 6 ngày	142	30.7	7.04 \pm 0.02
14-20 tuần 6 ngày	295	63.7	7.13 \pm 0.03
\geq 21 tuần	26	5.6	9.53 \pm 0.03
Tổng	463	100	
X \pm SD	16 \pm 3.6		

Tăng dần



2. ĐẶC ĐIỂM MẪU GIẢI TRÌNH TỰ

Tỷ lệ cffDNA thấp trên tổng số mẫu

cffDNA	Số lượng	
	n	%
< 3.5%	19	4.1
> 3.5%	444	95.9
Tổng số	463	100.0

- Gil MM, Quezada MS, Revello R, Akolekar R, Nicolaides KH (2015). Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*
- Saskia Tamminga, Merel van Maarle, et al (2016). Maternal Plasma DNA and RNA Sequencing for Prenatal Testing. *Advances in Clinical Chemistry*

3. GIÁ TRỊ NIPS PHÁT HIỆN HỘI CHỨNG DOWN

Đặc điểm của 8 thai phụ nguy cơ cao HC Down

Stt	TM	Tuần thai	SLTS NCC T21	z-score	Giới tính	NIPS	Karyotype
1	27	17w	TT: 1/38	6.18	Nam	NCC T21	47,XY,+21
2	43	20w	TM	9.16	Nam	NCC T21	47,XY,+21
3	25	13w3d	CB: 1/13	4.87	Nữ	NCC T21	47,XX,+21
4	40	16w4d	TT: 1/50	6.8	Nữ	NCC T21	47,XX,+21
5	41	18w5d	CB: 1/151	10.02	Nữ	NCC T21	47,XX,+21
6	34	16w	CB: 1/9; NT:3.2	16.06	Nam	NCC T21	47,XY,+21
7	36	17w3d	TM	8.97	Nam	NCC T21	47,XY,+21
8	41	10w6d	TM	4.61	Nữ	NCC T21	Bỏ thai

TM: Tuổi mẹ; TT: triple test; CB: Combined test; NT: độ mờ da gáy; NCC T21: nguy cơ cao trisomy 21

DOWN

Tỷ lệ thai nguy cơ cao với hội chứng Down (DS)

Nguy cơ	Số lượng	
	n	%
Nguy cơ cao	8	1,73
Nguy cơ thấp	455	98,27
Tổng	463	100

- **Shan Dan, Wei Wang, et al (2012).** Clinical application of massively parallel sequencing-based prenatal noninvasive fetal trisomy test for trisomies 21 and 18 in 11105 pregnancies with mixed risk factors. *Prenatal Diagnosis*,
- **Akolekar R, Beta J, Picciarelli G, Ogilvie C, D'Antonio F (2015).** Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*

KẾT LUẬN

Sàng lọc trước sinh không xâm lấn bằng phương pháp NGS từ DNA thai tự do trong huyết tương mẹ phát hiện hội chứng Down

Tăng tỷ lệ phát hiện

Giảm tỷ lệ dương tính giả

Giảm nguy cơ mất thai

Giảm 98.27% tổng số ca thực hiện xét nghiệm xâm lấn (sinh thiết gai rau hoặc chọc hút dịch ối)

Chỉ thực hiện xét nghiệm xâm lấn khi kết quả NIPS nguy cơ cao



EM XIN TRÂN TRỌNG CẢM ƠN