

Báo cáo một số trường hợp khám nhiễm sắc thể trong chẩn đoán trước sinh và so sánh kết quả tương ứng sau sinh

Nguyễn Thị Huyền¹, Hoàng Thị Hải¹, Đào Thị Trang¹, Hoàng Thị Ngọc Lan^{1,2}, Nguyễn Thị Duyên¹, Nguyễn Ngân Hà¹, Vũ Thị Hà^{1,2}, Đoàn Thị Kim Phượng^{1,2*}

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện Đại học Y Hà Nội

Ngày nhận bài 7/5/2021; ngày chuyển phản biện 11/5/2021; ngày nhận phản biện 31/5/2021; ngày chấp nhận đăng 4/6/2021

Tóm tắt:

Thể khảm nhiễm sắc thể (NST) trong chẩn đoán trước sinh là một vấn đề phức tạp, gây bối rối trong nhận định khảm thật hay giả, do đó thường gây khó khăn trong tư vấn di truyền. Trong nghiên cứu này, các tác giả báo cáo 5 trường hợp khảm NST trong chẩn đoán karyotype trước sinh và so sánh với kết quả karyotype tương ứng của trẻ sau khi ra đời. Tế bào dịch ối và máu ngoại vi được làm NST theo phương pháp gián tiếp và phân tích NST theo tiêu chuẩn ISCN 2016. Mẫu được thu thập và phân tích, nghiên cứu tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội từ năm 2017 đến 2020. Kết quả cho thấy, có 3 trường hợp khảm NST bất thường trước sinh nhưng cho kết quả NST bình thường sau sinh và 2 trường hợp khảm NST bất thường trước sinh cho kết quả NST máu ngoại vi bất thường sau sinh. Các thông tin này góp phần cung cấp những bằng chứng quan trọng để tiên lượng các trường hợp khảm NST trong chẩn đoán trước sinh và tư vấn di truyền tốt hơn cho người bệnh.

Từ khóa: chẩn đoán sau sinh, chẩn đoán trước sinh, thể khảm giả, thể khảm thật.

Chỉ số phân loại: 3.2

Đặt vấn đề

Karyotyping (lập bản đồ NST) từ dịch ối được coi là một phương pháp tiêu chuẩn trong chẩn đoán các bất thường di truyền NST của thai trước sinh. Tuy nhiên, thể khảm trong chẩn đoán trước sinh phức tạp cả trong chẩn đoán cũng như tiên lượng kiểu hình của thai, gây nhiều khó khăn trong tư vấn di truyền trước sinh. Khảm NST là hiện tượng sinh học khi có ít nhất 2 dòng tế bào có kiểu karyotype khác nhau cùng tồn tại trong một cơ thể được phát triển từ một hợp tử đơn. Thể khảm từ dịch ối tùy mức độ mà có tiên lượng khảm thật và giả khác nhau với 3 mức độ (I, II và III) [1]. Biểu hiện lâm sàng của thể khảm hay thay đổi tùy vào các dòng tế bào bất thường, cơ quan và tỷ lệ khảm, do đó rất khó xác định kiểu hình chính xác mà thai nhi sẽ phát triển hướng tới. Sự không đồng nhất giữa kết quả của các phương pháp chẩn đoán khác nhau hay sự khác biệt kết quả giữa chẩn đoán trước và sau sinh cũng là những tình trạng bất thường cần được quan tâm. Y văn thế giới đã có nhiều nghiên cứu và báo cáo liên quan đến các dạng khảm phổ biến, nhất là bất thường cấu trúc NST thường, khảm lệch bội NST thường, khảm marker và khảm liên quan đến NST giới tính [2, 3]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi báo cáo 5 trường hợp khảm NST trong chẩn đoán karyotype trước sinh và so sánh với kết quả karyotype máu ngoại vi của trẻ sau khi ra đời. Tế bào dịch ối và máu ngoại vi được làm NST theo phương pháp gián tiếp và phân tích NST theo tiêu chuẩn ISCN 2016. Các mẫu khảm được đánh giá ít nhất 50 cụm tế bào kỳ giữa

ở 2 lần nuôi cấy độc lập. Kết quả của nghiên cứu cung cấp thêm các thông tin quan trọng để tiên lượng các trường hợp khảm NST trong chẩn đoán trước sinh và thực hiện tư vấn di truyền tốt hơn cho người bệnh.

Báo cáo ca bệnh

Trường hợp 1

Thai phụ 39 tuổi được chỉ định chọc hút dịch ối làm chẩn đoán trước sinh lúc thai 18 tuần do xét nghiệm sàng lọc huyết thanh mẹ có nguy cơ thai Down là 1/203. Kết quả karyotype của thai thu được từ 2 flask nuôi cấy tế bào ối riêng biệt là 45,X[38]/47,XXYY[38]. Kỹ thuật định lượng huỳnh quang (QF-PCR) bằng máy giải trình tự gen 3500 (Applied Biosystems, Life Technologies, Mỹ) từ các tế bào ối tươi không phát hiện bất thường trên các NST khảo sát. Bố mẹ có kiểu hình và karyotype từ tế bào máu ngoại vi là bình thường. Trong thai kỳ, siêu âm phát hiện thấy dây rốn nhỏ và thai nhi tăng cân chậm trong 2 tháng cuối, nhưng không thấy các dấu hiệu phát triển giới tính bất thường ở thai. Trẻ sau sinh có biểu hiện chậm phát triển tinh thần (nói, nghe, hiểu kém hơn trẻ cùng lứa tuổi) theo bảng đánh giá sự phát triển tinh thần vận động trẻ em của Bộ Y tế. Trẻ phát triển giới tính theo xu hướng nam, các dấu hiệu bất thường phát triển giới tính chưa được phát hiện. Nuôi cấy tế bào máu ngoại vi của trẻ sau sinh cho kết quả karyotype là 47,XXYY[60]/46,XY[60].

*Tác giả liên hệ: Email: doankimphuong@hmu.edu.vn

Report of some cases with chromosomal mosaicism in prenatal diagnosis and the corresponding results after birth

Thi Huyen Nguyen¹, Thi Hai Hoang¹, Thi Trang Dao¹,
Thi Ngoc Lan Hoang^{1,2}, Thi Duyen Nguyen¹,
Ngan Ha Nguyen¹, Thi Ha Vu^{1,2}, Thi Kim Phuong Doan^{1,2*}

¹Hanoi Medical University

²Hanoi Medical University Hospital

Received 7 May 2021; accepted 4 June 2021

Abstract:

Chromosomal mosaicism in prenatal diagnosis is a complex problem that confuses the perception of true mosaicism or pseudomosaicism and often causes difficulties in genetic counseling. In this study, the authors reported 5 cases of chromosomal mosaicism in prenatal karyotype diagnosis and compared them with the corresponding karyotype results of children after birth. Amniotic fluid and peripheral blood cells were prepared chromosomal metaphase by culture method and chromosomal analysis according to ISCN 2016 standards. Samples were collected and analysed at Hanoi Medical University Hospital from 2017 to 2020. There were 3 cases of abnormal prenatal chromosomal mosaicism, but the postnatal results were normal, two cases of abnormal prenatal chromosome mosaicism, but had abnormal peripheral blood postnatal chromosome results. These results, together with discussion, will provide more valuable information for the prognosis of chromosome mosaicism cases in prenatal diagnosis and give better genetic counseling for the patients.

Keywords: postnatal diagnosis, prenatal diagnosis, pseudomosaicism, true mosaicism.

Classification number: 3.2

Trường hợp 2

Thai phụ 45 tuổi được chỉ định chọc hút dịch ối để chẩn đoán trước sinh lúc 18 tuần do xét nghiệm sàng lọc huyết thanh mẹ có nguy cơ thai Down là 1/106. Kết quả karyotype khi nuôi cấy tế bào ối là 46,XY[28]/46,XX[24]. 2 dòng tế bào này chỉ xuất hiện ở 1 flask nuôi cấy. Kỹ thuật QF-PCR từ các tế bào ối tươi không phát hiện bất thường trên các NST khảo sát. Không phát hiện thấy bất thường hình thái của thai trong suốt thai kỳ. Trẻ được sinh ra khi đủ tháng, sau sinh phát triển tâm thần và vận động bình thường. Nuôi cấy tế bào máu ngoại vi sau sinh của trẻ cho kết quả karyotype là 46,XY (đánh giá 60 cụm NST kỳ giữa).

Trường hợp 3

Thai phụ 27 tuổi được chỉ định chọc hút dịch ối để chẩn đoán trước sinh lúc 19 tuần do xét nghiệm sàng lọc huyết thanh mẹ có nguy cơ thai Down là 1/116. Nuôi cấy tế bào ối cho karyotype là 46,XY,t(4;6;11)(p15.2;p21.1;p15)[3]/46,XY[48]. Dòng tế bào bất thường này chỉ xuất hiện ở 1 flask nuôi cấy. Kỹ thuật QF-PCR từ các tế bào ối tươi không phát hiện bất thường trên các NST khảo sát. Trẻ được sinh ra sau một thai kỳ bình thường, sau sinh trẻ có các mốc phát triển tâm thần và vận động bình thường. Nuôi cấy tế bào máu ngoại vi của trẻ sau sinh cho kết quả karyotype là 46,XY (đánh giá 60 cụm NST kỳ giữa).

Trường hợp 4

Thai phụ 23 tuổi được chỉ định chọc hút dịch ối để chẩn đoán trước sinh lúc 19 tuần do xét nghiệm sàng lọc huyết thanh mẹ có nguy cơ thai Down là 1/210. Nuôi cấy tế bào ối cho kết quả karyotype là 46,XY,t(1;2)(q12;q310)[5]/46,XY[50] chỉ ở 1 flask. Kỹ thuật QF-PCR từ các tế bào ối tươi không phát hiện bất thường trên các NST khảo sát. Trong suốt thai kỳ không phát hiện thấy các bất thường hình thái của thai trên siêu âm. Sau sinh, trẻ có các mốc phát triển tâm thần và vận động bình thường. Nuôi cấy tế bào máu ngoại vi của trẻ sau sinh cho karyotype 46,XY.

Trường hợp 5

Thai phụ 37 tuổi được chỉ định chọc hút dịch ối làm chẩn đoán trước sinh lúc 17 tuần do xét nghiệm sàng lọc huyết thanh mẹ có nguy cơ thai mắc Trisomy 18 là 1/92. Nuôi cấy tế bào ối cho kết quả karyotype là 46,XY,t(1;5)(p36.3;q31)[7]/46,XY[163] ở cả 2 flask nuôi cấy. Kỹ thuật QF-PCR từ các tế bào ối tươi không phát hiện bất thường trên các NST khảo sát. Trẻ được sinh ra sau một thai kỳ bình thường, sau sinh có các mốc phát triển tâm thần và vận động bình thường. Nuôi cấy tế bào máu ngoại vi trẻ sau sinh cho kết quả karyotype là 46,XY.

Đặc điểm 5 trường hợp nêu trên được tóm tắt ở bảng 1.

Bảng 1. Thống kê đặc điểm 5 trường hợp báo cáo.

Ca bệnh	Trường hợp 1	Trường hợp 2	Trường hợp 3	Trường hợp 4	Trường hợp 5
Tuần thai (tuần)	18	18	19	19	17
Chỉ định chọc ối	Sàng lọc huyết thanh mẹ có nguy cơ thai bị Down là 1/203	Sàng lọc huyết thanh mẹ có nguy cơ thai bị Down là 1/106	Sàng lọc huyết thanh mẹ có nguy cơ thai bị Down là 1/116	Sàng lọc huyết thanh mẹ có nguy cơ thai bị Down là 1/210	Sàng lọc huyết thanh mẹ có nguy cơ thai mắc Trisomy 18 là 1/92
Karyotype trước sinh flask 1	45,X[23]/47,XXY[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;q31)[5]/46,XY[50]	46,XY,t(1;5)(p36.3;q31)[4]/46,XY[93]
Karyotype trước sinh flask 2	45,X[15]/47,XXY[16]	46,XY	46,XY	46,XY	46,XY,t(1;5)(p36.3;q31)[3]/46,XY[70]
QF-PCR từ mẫu dịch ối tươi	Không phát hiện bất thường trên các NST khảo sát	Không phát hiện bất thường trên các NST khảo sát	Không phát hiện bất thường trên các NST khảo sát	Không phát hiện bất thường trên các NST khảo sát	Không phát hiện bất thường trên các NST khảo sát
Karyotype sau sinh	47,XXY[60]/46,XY[60]	46,XY	46,XY	46,XY	46,XY
Đánh giá tâm thần vận động sau sinh	Chậm phát triển tinh thần: nói được 3 từ, gọi đáp chậm, chưa nói được câu phức tạp	Phát triển tâm thần, vận động bình thường	Phát triển tâm thần, vận động bình thường	Phát triển tâm thần, vận động bình thường	Phát triển tâm thần, vận động bình thường
Tuổi đánh giá sau sinh (tháng)	37	26	46	27	24

Bàn luận

Các mức độ khảm trong lập karyotype từ tế bào dịch ối được chia ra làm 3 mức độ: mức độ I được xác định khi chỉ có một tế bào bất thường đơn lẻ; mức độ II được xác định khi có nhiều tế bào có cùng bất thường trong một flask hoặc clone đơn lẻ; mức độ III được xác định khi có nhiều tế bào có cùng bất thường ở nhiều flask hoặc clone khác nhau và thường được coi là khảm thật sự [1]. Trong một số nghiên cứu, khảm 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, tỷ lệ giả khảm liên quan đến nhiều tế bào là 0,7-1,07%. Trong số đó, hơn 80% các trường hợp được báo cáo là bình thường, tỷ lệ khảm thật trong nuôi cấy dịch ối là 0,37% [4, 5]. Tuy nhiên, sự tiên lượng này không phải là tuyệt đối khi vẫn có các trường hợp khảm mức độ I và II từ tế bào dịch ối nhưng lại cho kết quả khảm thực sự từ cơ thể của thai. Trong báo cáo này, các trường hợp 2, 3 và 4 phù hợp với các hiện tượng giả khảm. Cả 5 trường hợp báo cáo đều chọc ối chẩn đoán trước sinh do sàng lọc huyết thanh nguy cơ cao mà không phát hiện thấy bất thường hình thái của thai.

Các phương pháp di truyền phân tử như QF-PCR phát hiện được các bất thường số lượng 5 loại NST: 13, 18, 21, X và Y. Phương pháp này được thực hiện với mẫu dịch tế bào ối không qua nuôi cấy nên cho kết quả nhanh chóng trong vòng 24 giờ, hạn chế sự xuất hiện các bất thường trong quá trình nuôi cấy dài ngày - được thể hiện rõ trong trường hợp 2. Ca bệnh này có kết quả karyotype khảm 2 dòng tế bào XX/XY nhưng phương pháp QF-PCR cho kết quả bình thường, trùng hợp với karyotype sau khi trẻ sinh ra là 46,XY. Tuy nhiên, kỹ thuật QF-PCR không phát hiện được các bất thường cấu trúc khi không có sự mất cân bằng

vật chất di truyền (trường hợp 3, 4). Đây là các bất thường chuyển đoạn chỉ xuất hiện ở 1 lần nuôi cấy với tỷ lệ thấy <10% và không xuất hiện ở lần nuôi cấy độc lập khác, có thể giải thích bằng hiện tượng giả khảm đã xuất hiện trong quá trình nuôi cấy tế bào dài ngày [6, 7]. Luận điểm này được khẳng định thêm bởi karyotype của trẻ sau khi ra đời bình thường là 46,XY, đánh giá các mốc phát triển tinh thần vận động của trẻ trong ngưỡng bình thường.

Sự phức tạp của thể khảm trong chẩn đoán trước sinh còn thể hiện ở sự không tương đồng kết quả của chẩn đoán trước và sau sinh. Trường hợp 1 và 5 có khảm mức độ III với tiên lượng là các khảm thật, nhưng kết quả karyotype chẩn đoán sau sinh từ máu ngoại vi lại cho ra một kết quả khác với từ tế bào ối. Tất cả sự kiểm soát chất lượng xét nghiệm nội bộ đã cho phép loại trừ trường hợp trao đổi mẫu và nhiễm tế bào mẹ. Sự khác biệt kết quả karyotype giữa tế bào ối và tế bào máu ngoại vi sau sinh là một tình trạng rất bất thường, đã được báo cáo ở một số nghiên cứu trước đây [8, 9]. Sự không nhất quán này có thể bắt nguồn từ sự khảm giới hạn ở các cơ quan khác nhau. Nhưng đây cũng có thể là kết quả của sự chọn lọc ưu thế các dòng tế bào trong quá trình phát triển của thai. Sự chọn lọc tự nhiên chống lại các sự bất thường xảy ra ở thai làm tăng khả năng sống sót cũng như hạn chế các bất thường có thể xảy ra ở thai trong những thể khảm thực sự, được thể hiện trong trường hợp 5 của nghiên cứu này. Tuy nhiên, sự chọn lọc này không xảy ra đồng đều ở cả 2 giới, nam giới có xu hướng chọn lọc tốt hơn để lại các bất thường có sự cân bằng vật chất di truyền, được cho là có liên quan đến đến sự có mặt của NST Y. Trong khi đó, nữ giới lại có sự chọn lọc kém hơn, dẫn đến tỷ lệ nữ giới có sự khảm các dòng tế bào bất thường không cân bằng vật chất di truyền cao hơn nam giới [10]. Trường hợp 1 gọi

ý hiện tượng phôi thai có sự suy giảm các dòng tế bào bất thường 45,X để làm tiền đề cho một thai kỳ thuận lợi. Đồng thời với dòng 45,X, dòng tế bào thứ 2 cũng bất thường XYY có thể gây nên phân ly không đồng đều trong nguyên phân, tạo ra cơ thể trẻ sau sinh có karyotype là 47,XYY/46,XY với biểu hiện chậm phát triển tinh thần.

Kết luận

Các phát hiện khảm NST trong chẩn đoán trước sinh gây khó khăn trong tiên lượng di truyền của thai. Tiên lượng này còn phụ thuộc vào biểu hiện tương quan kiểu gen - kiểu hình của thể khảm rất nhiều. Trong thể khảm, mức độ khảm và loại khảm không có sự tương quan tỷ lệ với biểu hiện kiểu hình của người mang thể khảm. Biểu hiện lên kiểu hình của dòng tế bào bất thường còn phụ thuộc vào loại khảm, cơ quan, tỷ lệ khảm ở từng cơ quan, quá trình phát triển của từng cá thể khiến các dòng tế bào bất thường bị ức chế hoặc tăng cường biểu hiện. Hiểu biết về những cơ chế này kết hợp với các xét nghiệm nuôi cấy tế bào, không nuôi cấy tế bào (QF-PCR) để loại trừ trường hợp khảm chỉ xuất hiện trong quá trình nuôi cấy dài ngày mà không xuất hiện ở thai. Bên cạnh đó, cần đánh giá NST ở ít nhất 2 lần tế bào nuôi cấy độc lập với một mẫu dịch ối. Sau cùng, để tư vấn di truyền trước sinh những mẫu khảm NST, cần phối hợp các kết quả siêu âm hình thai và xem xét đầy đủ các yếu tố ảnh hưởng đến thai kỳ để tiên lượng và đưa ra sự tư vấn di truyền tốt nhất cho người bệnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] F.R. Grati (2014), "Chromosomal mosaicism in human fetoplacental development: implications for prenatal diagnosis", *J. Clin.*

Med., **3(3)**, pp.809-837.

[2] L.Y. Hsu, et al. (1996), "Incidence and significance of chromosome mosaicism involving an autosomal structural abnormality diagnosed prenatally through amniocentesis: a collaborative study", *Prenatal Diagnosis*, **16(1)**, pp.1-28.

[3] O.P. Hamiel, et al. (2002), "Prenatal diagnosis of sex differentiation disorders: the role of fetal ultrasound", *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **87(10)**, pp.4547-4553.

[4] P. Benn, et al. (1984), "Prenatal diagnosis of chromosome mosaicism", *Prenatal Diagnosis*, **4(1)**, pp.1-9.

[5] L.Y. Hsu, T.E. Perlis (1984), "United States survey on chromosome mosaicism and pseudomosaicism in prenatal diagnosis", *Prenatal Diagnosis*, **4(7)**, pp.97-130.

[6] C.P. Chen, et al. (2011), "Cytogenetic discrepancy between uncultured amniocytes and cultured amniocytes in mosaic isochromosome 20q detected at amniocentesis", *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*, **50(22)**, pp.245-248.

[7] C.P. Chen, et al. (2015), "Mosaic trisomy 15 at amniocentesis: prenatal diagnosis, molecular genetic analysis and literature review", *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*, **54(4)**, pp.426-431.

[8] D. Bizzoco, et al. (2012), "Discordance between karyotype from amniotic fluid and postnatal lymphocyte cultures", *Journal of Prenatal Medicine*, **6(2)**, pp.34-35.

[9] A. Loft, A. Tabor (1984), "Discordance between prenatal cytogenetic diagnosis and outcome of pregnancy", *Prenatal Diagnosis*, **4(1)**, pp.51-59.

[10] N.V. Kovaleva, P.D. Cotter (2016), "Somatic/gonadal mosaicism for structural autosomal rearrangements: female predominance among carriers of gonadal mosaicism for unbalanced rearrangements", *Molecular Cytogenetics*, **8(9)**, DOI: 10.1186/s13039-015-0211-y.