

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC MỞ HÀ NỘI**



ĐỒ ÁN THẠC SĨ

CHUYÊN NGÀNH: CÔNG NGHỆ SINH HỌC

Đề tài:

**NGHIÊN CỨU MỘT SỐ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN NỒNG
ĐỘ DNA THAI TỰ DO VÀ XÁC ĐỊNH GIÁ TRỊ CỦA KẾT
QUẢ SÀNG LỌC TRƯỚC SINH KHÔNG XÂM LẤN**

ĐẶNG THÁI SƠN

Hà Nội - 2026

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC MỞ HÀ NỘI**



ĐỒ ÁN THẠC SĨ

Đề tài:

**NGHIÊN CỨU MỘT SỐ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN NỒNG
ĐỘ DNA THAI TỰ DO VÀ XÁC ĐỊNH GIÁ TRỊ CỦA KẾT
QUẢ SÀNG LỌC TRƯỚC SINH KHÔNG XÂM LẤN**

ĐẶNG THÁI SƠN

CHUYÊN NGÀNH : CÔNG NGHỆ SINH HỌC

MÃ NGÀNH: 8420201

HƯỚNG DẪN KHOA HỌC 1: PGS.TS. TRIỆU TIỀN SANG

HƯỚNG DẪN KHOA HỌC 2: PGS.TS. TẠ THỊ THU THỦY

Hà Nội - 2026

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Đặng Thái Sơn, học viên cao học khóa 23-25, Trường Đại học Mở Hà Nội, chuyên ngành Công nghệ sinh học, xin cam đoan:

1. Đây là luận văn do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của PGS.TS. Triệu Tiến Sang và PGS.TS. Tạ Thị Thu Thủy.
2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.
3. Các số liệu và thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác.

Hà Nội, ngày 05 tháng 07 năm 2026.

Học viên

Đặng Thái Sơn

LỜI CẢM ƠN

Trước hết, em xin chân thành cảm ơn các thầy cô giáo, các cán bộ thuộc Viện Công nghệ sinh học và công nghệ thực phẩm – Trường Đại học Mở Hà Nội đã tạo điều kiện thuận lợi nhất cho em có thể hoàn thành đề tài này.

Em cũng xin gửi lời cảm ơn chân thành tới PGS.TS. Triệu Tiến Sang chủ nhiệm khoa Y sinh học Di truyền, Học viện Quân Y, đã trực tiếp tận tình hướng dẫn và dìu dắt em trong suốt quá trình em thực tập và hoàn thành đề tài. Em xin trân trọng cảm ơn PGS.TS. Tạ Thị Thu Thủy – cô đồng hướng dẫn đã có những góp ý, định hướng, giúp em có thể hoàn thiện luận văn tốt hơn.

Tiếp theo, em xin gửi lời cảm ơn tới anh chị, cán bộ công tác tại phòng xét nghiệm di truyền Y học công nghệ cao đã hỗ trợ em thực hiện đề tài.

Em xin cảm ơn gia đình, bạn bè và người thân đã là chỗ dựa tinh thần cho em trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Trong quá trình thực tập khó tránh khỏi những sai sót, kính mong các thầy cô giáo, các anh chị và các bạn góp ý để em tiếp thu và hoàn thiện.

Em xin chân thành cảm ơn!

Hà Nội, ngày 05 tháng 07 năm 2026.

Học viên

Đặng Thái Sơn

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	3
LỜI CẢM ƠN	4
MỤC LỤC	5
DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT	8
DANH MỤC BẢNG	11
DANH MỤC HÌNH	12
ĐẶT VẤN ĐỀ	13
1. Tính cấp thiết của đề tài	13
2. Mục tiêu của đề tài	14
3. Nội dung nghiên cứu	14
PHẦN I. TỔNG QUAN	15
1.1. TỔNG QUAN VỀ DNA TỰ DO cfDNA VÀ DNA THAI TỰ DO cffDNA	15
1.1.1. Nguồn gốc và lịch sử phát hiện của cfDNA và cffDNA	15
1.1.2. Ứng dụng của cfDNA và cffDNA	16
1.1.3. Các yếu tố ảnh hưởng đến tỷ lệ DNA thai tự do.....	17
1.2. BẤT THƯỜNG NHIỄM SẮC THỂ Ở THAI NHI	18
1.2.1. Khái niệm và phân loại bất thường nhiễm sắc thể.....	18
1.2.2. Tần suất xuất hiện bất thường.....	20
1.2.3. Một số bất thường nhiễm sắc thể thường gặp.....	21
1.2.4. Nhóm bất thường nhiễm sắc thể hiếm gặp	23
1.2.5. Các yếu tố ảnh hưởng đến bất thường nhiễm sắc thể	24
1.3. SÀNG LỌC TRƯỚC SINH KHÔNG XÂM LẤN NIPT.....	25
1.3.1. Nguồn gốc và lịch sử phát triển của NIPT.....	25
1.3.2. Nguyên lý của NIPT trong giải trình tự gen thế hệ mới	26
1.3.3. Độ tin cậy và hạn chế của xét nghiệm NIPT	27
1.3.4. Các yếu tố ảnh hưởng tới kết quả xét nghiệm NIPT	28
1.4. CÔNG NGHỆ GIẢI TRÌNH TỰ GEN THẾ HỆ MỚI Ion Proton	29
1.4.1. Khái quát về giải trình tự gen thế hệ mới	29

1.4.2.	Nguyên lý công nghệ giải trình tự gen Ion Proton	29
1.4.3.	So sánh một số nguyên lý giải trình tự gen khác	30
1.4.4.	Ứng dụng của hệ thống Ion Proton trong xét nghiệm NIPT.....	33
1.5.	MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP TRONG NGHIÊN CỨU NIPT	33
1.5.1.	Phương pháp tách chiết cfDNA	33
1.5.2.	Phương pháp khuếch đại gen qPCR, dPCR.....	34
1.5.3.	Phương pháp lai DNA aCGH	34
1.6.	CÁC KỸ THUẬT CHẨN ĐOÁN ĐỐI VỚI NIPT.....	34
1.6.1.	Nuôi cấy nhiễm sắc thể đồ dịch ối (Karyotype)	35
1.6.2.	Lai huỳnh quang tại chỗ (FISH)	35
1.6.3.	Giải trình tự biến thể số lượng bản sao (CNV-seq)	35
1.6.4.	Định lượng huỳnh quang PCR (QF-PCR)	36
1.7.	TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU TRONG NƯỚC VÀ TRÊN THẾ GIỚI	36
1.7.1.	Nghiên cứu trong nước	36
1.7.2.	Nghiên cứu trên thế giới	37
PHẦN II.	ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP	39
2.1.	ĐỐI TƯỢNG, ĐỊA ĐIỂM VÀ THỜI GIAN NGHIÊN CỨU	39
2.1.1.	Đối tượng	39
2.1.2.	Tiêu chuẩn loại trừ	39
2.1.3.	Địa điểm và thời gian nghiên cứu	39
2.1.4.	Thời gian thực hiện đồ án	39
2.2.	VẬT LIỆU NGHIÊN CỨU.....	39
2.2.1.	Vật tư, thiết bị dùng trong nghiên cứu	39
2.2.2.	Hóa chất	40
2.3.	PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	41
2.3.1.	Phương pháp tách chiết cfDNA	41
2.3.2.	Phương pháp xây dựng thư viện	42
2.3.3.	Quy trình tạo ISP trên máy OneTouch2	44
2.3.4.	Quy trình làm giàu ISP	45
2.3.5.	Quy trình giải trình tự bán dẫn trên hệ thống Ion Proton	45
2.3.6.	Phần mềm chạy và phân tích kết quả.....	45
2.3.6.1.	Phần mềm chạy giải trình tự	45

2.3.6.2.	Phần mềm phân tích	46
2.3.7.	Theo dõi và chẩn đoán trước sinh xâm lấn	48
2.4.	PHƯƠNG PHÁP THỐNG KÊ.....	48
2.5.	QUY TRÌNH THỰC HIỆN NGHIÊN CỨU.....	49
2.6.	ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU	50
PHẦN III.	KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN.....	51
3.1.	ĐẶC ĐIỂM CHUNG CỦA NHÓM NGHIÊN CỨU	51
3.1.1.	Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu	51
3.1.2.	Kết quả nồng độ tách chiết và tạo thư viện mẫu	52
3.2.	PHÂN TÍCH CÁC YẾU TỐ LIÊN QUAN VỚI DNA THAI TỰ DO	53
3.2.1.	Kết quả nồng độ FF với nhóm tuổi mẹ	53
3.2.2.	Phân tích nồng độ FF với các nhóm tuần thai.....	54
3.2.3.	Kết quả nồng độ FF với chỉ số BMI	56
3.2.4.	Kết quả sàng lọc trước sinh từ tuần thứ 9	58
3.3.	KẾT QUẢ SÀNG LỌC TRƯỚC SINH KHÔNG XÂM LẤN.....	59
3.3.1.	Kết quả phát hiện bất thường lệch bội NST thường gặp	59
3.3.2.	Kết quả phát hiện bất thường lệch bội NST hiếm gặp	60
3.3.3.	Kết quả phát hiện bất thường lệch bội NST giới tính	62
3.4.	GIÁ TRỊ SÀNG LỌC CỦA XÉT NGHIỆM NIPT.....	63
3.4.1.	Kết quả xác nhận chẩn đoán nhóm nguy cơ cao T13/T18/T21	63
3.4.2.	Giá trị sàng lọc của xét nghiệm NIPT đối với nhóm T13/T18/T21.....	65
KẾT LUẬN		68
KIẾN NGHỊ.....		70
DANH MỤC BÀI BÁO ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN TỚI LUẬN VĂN.....		71
TÀI LIỆU THAM KHẢO		72
PHỤ LỤC		

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Chữ viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
aCGH	Array Comparative Genomic Hybridization	Lai so sánh hệ gen trên vi mảng
ACOG	American College of Obstetricians and Gynecologists	Hội Sản phụ khoa Hoa Kỳ
ADHD	Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder	Rối loạn tăng động giảm chú ý
ASD	Autism Spectrum Disorder	Rối loạn phổ tự kỷ
BCT	Blood Collection Tube (Cell-Free DNA BCT)	Ống thu máu bảo quản DNA tự do (Streck BCT)
BMI	Body Mass Index	Chỉ số khối cơ thể
cfDNA	cell-free DNA	DNA tự do (trong huyết tương)
cffDNA	cell-free fetal DNA	DNA thai tự do
chrN	chromosome N	Nhiễm sắc thể N (chrN)
CNV	Copy Number Variation	Biến thể số lượng bản sao
CNV-seq	Copy number variation sequencing	Giải trình tự biến thể số lượng bản sao
CNVs	Copy Number Variations	Các biến thể số lượng bản sao
DNA	Deoxyribonucleic acid	Axit deoxyribonucleic
dPCR	digital PCR	PCR kỹ thuật số
emPCR	emulsion PCR	PCR nhũ tương
ES	Enrichment System	Hệ thống làm giàu
FF	fetal fraction	Tỷ lệ DNA thai (trong cfDNA)

FISH	Fluorescence In Situ Hybridization	Lai huỳnh quang tại chỗ
ISCN	International System for Human Cytogenomic Nomenclature	Hệ thống danh pháp quốc tế về tế bào di truyền người
ISP	Ion Sphere Particles	Hạt Ion Sphere (mang DNA khuôn)
IVF	In Vitro Fertilization	Thụ tinh trong ống nghiệm
IVF-ET	In Vitro Fertilization and Embryo Transfer	Thụ tinh trong ống nghiệm và chuyển phôi
KS	Klinefelter Syndrome	Hội chứng Klinefelter
NGS	Next-Generation Sequencing	Giải trình tự gen thế hệ mới
NIPS	Non-Invasive Prenatal Screening	Sàng lọc trước sinh không xâm lấn
NIPT	Non-Invasive Prenatal Testing	Sàng lọc trước sinh không xâm lấn
NIPT-plus	Expanded NIPT	NIPT mở rộng
NPV	Negative Predictive Value	Giá trị tiên đoán âm
NST	Chromosome	Nhiễm sắc thể
PCR	Polymerase Chain Reaction	Phản ứng chuỗi polymerase
PPV	Positive Predictive Value	Giá trị tiên đoán dương
QF-PCR	Quantitative Fluorescent PCR	PCR định lượng huỳnh quang
qPCR	quantitative PCR (real-time PCR)	PCR định lượng thời gian thực
RAD	Rapid Aneuploidy Detection	Phát hiện lệch bội nhanh
RATs	Rare Autosomal Trisomies	Tam nhiễm NST thường hiếm
RhD	Rhesus D antigen	Yếu tố RhD (kháng nguyên D hệ Rhesus)

RNA	Ribonucleic acid	Axit ribonucleic
SNP	Single Nucleotide Polymorphism	Đa hình đơn nucleotide
T13	Trisomy 13	Tam nhiễm 13
T18	Trisomy 18	Tam nhiễm 18
T21	Trisomy 21	Tam nhiễm 21
TE	Tris-EDTA buffer	Đệm TE (Tris–EDTA)
TS	Turner Syndrome	Hội chứng Turner
WES	Whole-Exome Sequencing	Giải trình tự toàn bộ vùng mã hóa
WGS	Whole-Genome Sequencing	Giải trình tự toàn bộ hệ gen
Z-score	Z-score	Điểm Z (giá trị Z)
*	Image edited using AI	Hình ảnh được chỉnh sửa bằng trí tuệ nhân tạo

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1: So sánh giữa các phương pháp giải trình tự	30
Bảng 2. Vật tư, thiết bị dùng trong nghiên cứu.....	39
Bảng 3. Hóa chất dùng trong nghiên cứu.....	40
Bảng 4. Hóa chất chạy phản ứng End-repair	42
Bảng 5. Hóa chất chạy phản ứng gắn adapter + barcode	43
Bảng 6. Hóa chất chạy bước khuếch đại thư viện.....	43
Bảng 7. Tỷ lệ đoạn đọc của nhiễm sắc thể.....	46
Bảng 8. Cách tính giá trị Z-score	47
Bảng 9. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu.....	52
Bảng 10. Kết quả nồng độ tách chiết DNA tự do và nồng độ lập thư viện	53
Bảng 11. So sánh FF giữa các nhóm tuổi mẹ.....	54
Bảng 12. So sánh nồng độ FF giữa các nhóm chỉ số BMI.....	57
Bảng 13. So sánh tỷ lệ trả kết quả NIPT giữa nhóm 9 tuần và nhóm 10–13 tuần....	58
Bảng 14. Phân bố các bất thường lệch bội NST thường gặp	60
Bảng 15. Kết quả phát hiện bất thường lệch bội NST hiếm gặp	61
Bảng 16. Kết quả phát hiện lệch bội NST giới tính.....	63
Bảng 17. Kết quả xâm lấn xác nhận NIPT nguy cơ cao nhóm NST thường gặp.	63
Bảng 18. So sánh giá trị tiên đoán dương của nhóm T13/T18/T21	65
Bảng 19. Giá trị sàng lọc của NIPT đối với nhóm T13/T18/T21	67

DANH MỤC HÌNH

Hình 1. Các cơ chế giải phóng DNA tự do [12]*.	15
Hình 2. Hình ảnh mô tả DNA trong huyết tương của mẹ [17]*.	16
Hình 3. Các cột mốc phát triển NIPT*.....	26
Hình 4. Các loại khảm nhau thai [76].	28
Hình 5. Bản tóm tắt run giải trình tự.....	46
Hình 6. Phần mềm phân tích NIPT	48
Hình 7. Quy trình nghiên cứu đồ án.....	49
Hình 8. Đồ thị hồi quy tuyến tính thể hiện mối tương quan giữa tuổi thai và FF.....	56

ĐẶT VẤN ĐỀ

1. Tính cấp thiết của đề tài

Bất thường nhiễm sắc thể là một trong những nguyên nhân quan trọng gây sảy thai, thai lưu, dị tật tim, đa ngón, dị tật thần kinh và hở miệng - mặt, từ đó ảnh hưởng nặng nề đến gia đình cũng như tạo gánh nặng cho hệ thống y tế - xã hội [1, 2]. Trong đó, các lệch bội thường gặp như trisomy 21, trisomy 18, trisomy 13 và bất thường nhiễm sắc thể giới tính chiếm tỷ lệ đáng kể, đồng thời có liên quan chặt chẽ với tuổi mẹ. Theo Savva và cộng sự, tần suất trisomy 21, 18 và 13 bắt đầu tăng từ khoảng 30 tuổi và tăng rõ ở nhóm ≥ 35 tuổi, đặc biệt trong giai đoạn 35-40 tuổi [1]. Khuyến cáo cập nhật của Hiệp hội Y học Mẹ và Thai nhi (SMFM) năm 2025 cũng nhấn mạnh NIPT có độ nhạy và độ đặc hiệu cao đối với các lệch bội phổ biến và nên được mở rộng trong sàng lọc thường quy cho thai phụ [3].

Việc phát hiện và phân tích DNA thai tự do (cell-free fetal DNA - cffDNA) có nguồn gốc từ nhau thai trong máu mẹ đã tạo ra bước tiến lớn trong lĩnh vực y học trước sinh. Cùng với sự phát triển của công nghệ giải trình tự gen thế hệ mới (Next Generation Sequencing - NGS), trong đó có các nền tảng giải trình tự bán dẫn như Ion Proton, NIPT ngày càng được ứng dụng rộng rãi trong thực hành lâm sàng, đặc biệt đối với sàng lọc trisomy 21, trisomy 18 và trisomy 13 [4].

Trong quá trình phát triển thai kỳ, các tế bào nhau thai liên tục chết theo chương trình và giải phóng các đoạn DNA ngắn vào tuần hoàn mẹ. Vì nhau thai thường có bộ gen tương đồng với thai nhi, các đoạn DNA này được sử dụng để đánh giá nguy cơ bất thường nhiễm sắc thể của thai thông qua xét nghiệm NIPT. Tuy nhiên, NIPT vẫn là xét nghiệm sàng lọc vì cffDNA không phải trực tiếp từ thai nhi, có thể xuất hiện kết quả dương tính giả hoặc âm tính giả. Các nguyên nhân đã được ghi nhận gồm khảm nhau thai, DNA tự do từ nhau thai của thai lưu sớm, bất thường nhiễm sắc thể ở mẹ, bệnh lý ác tính và khác biệt giữa các nền tảng kỹ thuật phân tích. Vì vậy, theo khuyến cáo của Hội Sản phụ khoa Hoa Kỳ (ACOG), kết quả NIPT nguy cơ cao cần được tư vấn di truyền và xác nhận bằng xét nghiệm chẩn đoán xâm lấn như chọc

ôi hoặc sinh thiết gai nhau. Ngược lại, kết quả NIPT nguy cơ thấp chỉ làm giảm nguy cơ, không loại trừ tuyệt đối mọi bất thường di truyền [5].

Độ tin cậy của NIPT phụ thuộc nhiều vào tỷ lệ DNA thai tự do (fetal fraction - FF). Nhiều nghiên cứu quy mô lớn cho thấy FF chịu ảnh hưởng bởi tuổi thai, chỉ số khối cơ thể (BMI) và tuổi mẹ. Khi FF thấp, nguy cơ kết quả không kết luận được hoặc sai lệch tăng lên, ảnh hưởng trực tiếp đến độ tin cậy của xét nghiệm và quá trình tư vấn di truyền [6-9]. Tại Việt Nam, mặc dù NIPT đã được triển khai rộng rãi, các nghiên cứu hồi cứu cỡ mẫu lớn đánh giá mối liên quan giữa FF, các yếu tố mẹ - thai và giá trị sàng lọc của NIPT vẫn còn hạn chế. Vì vậy, đề tài “**Nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng đến nồng độ DNA thai tự do và xác định giá trị của kết quả sàng lọc trước sinh không xâm lấn**” được thực hiện nhằm bổ sung bằng chứng cho thực hành tư vấn và sàng lọc trước sinh.

2. Mục tiêu của đề tài

- i. *Phân tích mối liên quan giữa tỷ lệ DNA thai tự do và các yếu tố tuổi mẹ, tuổi thai và chỉ số khối cơ thể.*
- ii. *Xác định giá trị của xét nghiệm sàng lọc NIPT đối với nhóm T13/T18/T21, mô tả kết quả nguy cơ cao đối với NST giới tính và NST hiếm gặp bằng phương pháp giải trình tự gen thế hệ mới.*

3. Nội dung nghiên cứu

Nội dung 1: Mô tả đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

Nội dung 2: Phân tích các yếu tố liên quan tới tỷ lệ DNA thai tự do

Nội dung 3: Mô tả kết quả sàng lọc trước sinh không xâm lấn.

Nội dung 4: Đối chiếu kết quả NIPT với kết quả chẩn đoán xâm lấn trong nhóm T13/T18/T21, từ đó xác định giá trị sàng lọc của NIPT trong sàng lọc trước sinh.

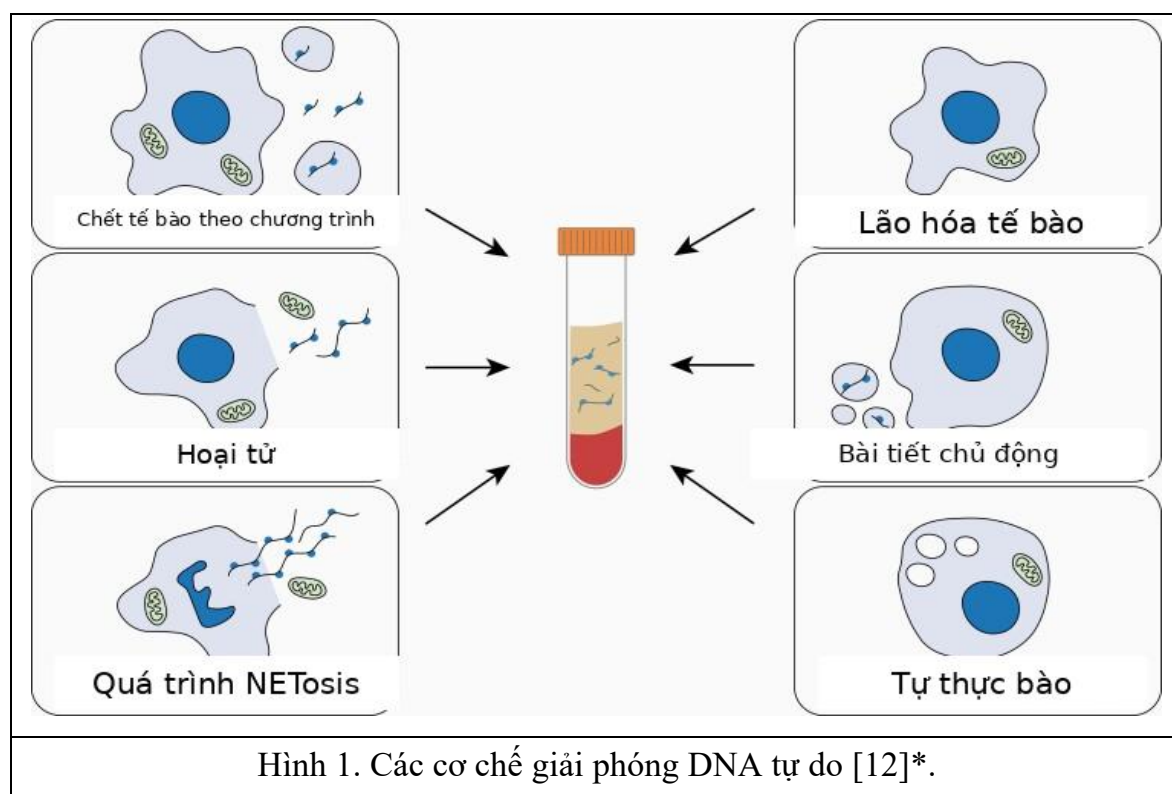
PHẦN I. TỔNG QUAN

1.1. TỔNG QUAN VỀ DNA TỰ DO cfDNA VÀ DNA THAI TỰ DO cffDNA

1.1.1. Nguồn gốc và lịch sử phát hiện của cfDNA và cffDNA

1.1.1.1. Nguồn gốc và lịch sử phát hiện của cfDNA

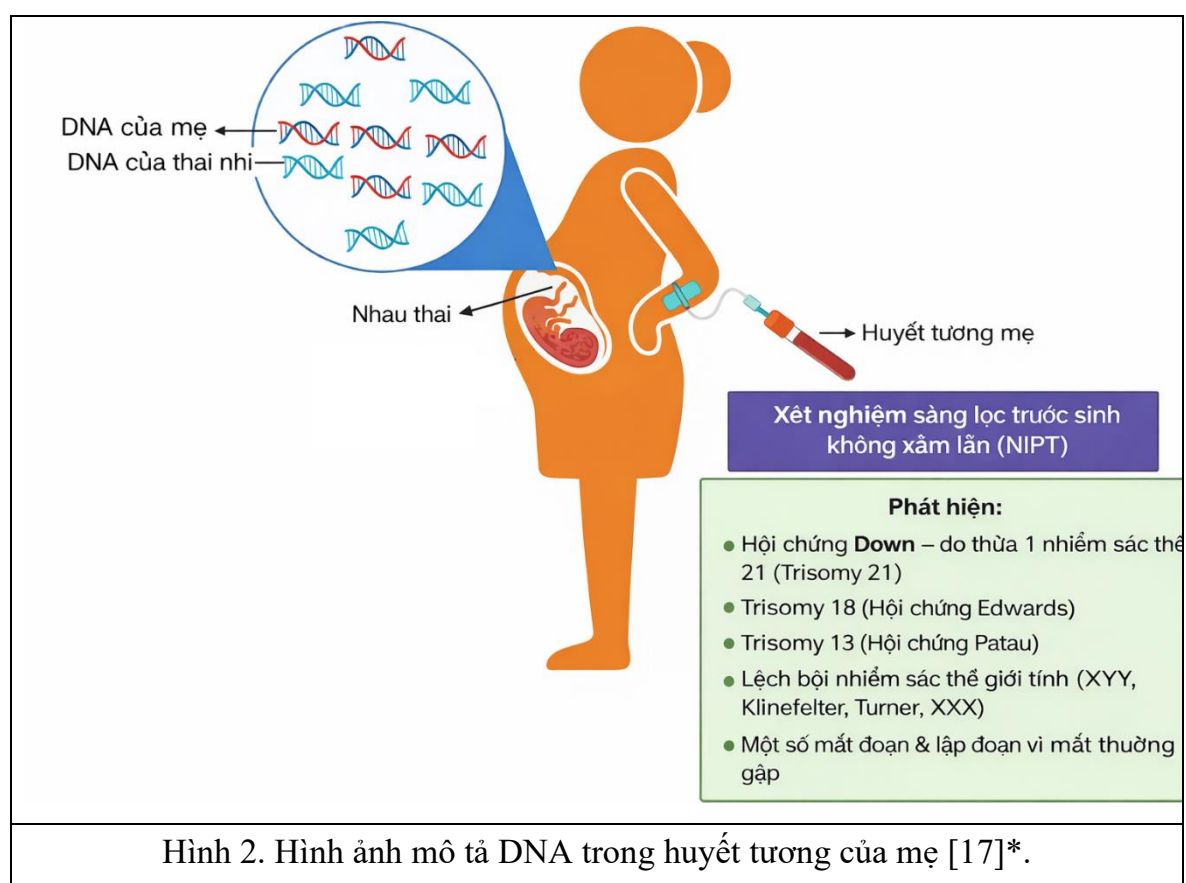
cfDNA là những đoạn DNA ngắn tồn tại tự do trong huyết tương hoặc huyết thanh, không nằm trong tế bào và không được bao bọc bởi màng tế bào. Các đoạn DNA này có thể bắt nguồn từ nhiều mô khác nhau. Ở người khỏe mạnh, phần lớn cfDNA có nguồn gốc từ các tế bào máu, đặc biệt là tế bào tạo máu, được giải phóng trong quá trình chết theo chương trình (apoptosis). Năm 1948, Mandel và Métails lần đầu mô tả sự hiện diện của axit nucleic trong huyết tương người. Đến năm 1977, Leon và cộng sự ghi nhận nồng độ cfDNA tăng ở bệnh nhân ung thư, mở ra hướng sử dụng cfDNA như một dấu ấn sinh học [10]. Sau đó, việc phát hiện các đột biến đặc hiệu của khối u, như RAS, trong cfDNA đã củng cố khái niệm sinh thiết lỏng (liquid biopsy); lĩnh vực này tiếp tục phát triển nhờ PCR định lượng và giải trình tự thế hệ mới [11].



Hình 1. Các cơ chế giải phóng DNA tự do [12]*.

1.1.1.2. Nguồn gốc và lịch sử phát hiện của cffDNA

Với cfDNA, cột mốc quan trọng được ghi nhận vào năm 1997, khi Lo và cộng sự chứng minh sự tồn tại của DNA thai tự do trong huyết tương và huyết thanh mẹ bằng cách phát hiện các trình tự đặc hiệu của nhiễm sắc thể Y. Phát hiện này đặt nền móng cho các xét nghiệm sàng lọc trước sinh không xâm lấn (NIPT) [13]. Những nghiên cứu sau đó cho thấy cfDNA trong máu mẹ chủ yếu có nguồn gốc từ nhau thai, liên quan đến quá trình chết theo chương trình của tế bào nuôi [14]. Khi các tế bào này thoái hóa, chúng giải phóng các đoạn DNA thai có kích thước nhỏ, thường khoảng 150-200 bp; tỷ lệ các đoạn DNA này có xu hướng tăng dần theo tuổi thai [15]. Sau sinh, cfDNA được thải trừ rất nhanh khỏi tuần hoàn mẹ. Nghiên cứu của Lo và cộng sự ghi nhận thời gian bán hủy trung bình khoảng 16,3 phút và hầu như không còn phát hiện sau khoảng 2 giờ [16]. Từ phát hiện này, NIPT đã trở thành một hướng sàng lọc trước sinh có giá trị cao đối với các lệch bội nhiễm sắc thể thường gặp [7, 9].



1.1.2. Ứng dụng của cfDNA và cffDNA

1.1.2.1. Ứng dụng của cfDNA

Ứng dụng nổi bật nhất của cfDNA hiện nay là sinh thiết lỏng (liquid biopsy) trong ung thư học. Thay vì chỉ dựa vào mô khối u, bác sĩ có thể phân tích ctDNA có nguồn gốc từ khối u trong máu để hỗ trợ phát hiện bệnh, nhận diện đột biến gen liên quan đến lựa chọn thuốc đích và theo dõi đáp ứng điều trị theo thời gian mà không cần sinh thiết mô lặp lại nhiều lần. Ở ung thư vú di căn, Dawson và cộng sự cho thấy định lượng ctDNA có thể phản ánh diễn biến bệnh và nhạy hơn một số dấu ấn hoặc phương pháp theo dõi truyền thống [18]. Nghiên cứu quy mô lớn của Bettegowda và cộng sự cũng ghi nhận ctDNA có thể được phát hiện ở nhiều loại ung thư, với tỷ lệ phát hiện cao hơn ở giai đoạn tiến triển, qua đó củng cố vai trò của cfDNA như một nền tảng xét nghiệm không xâm lấn trong ung thư học [19].

1.1.2.2. Ứng dụng của cffDNA

Ứng dụng lâm sàng rộng rãi nhất của cffDNA là sàng lọc các lệch bội nhiễm sắc thể thường gặp, gồm trisomy 21, trisomy 18 và trisomy 13, cùng với một số bất thường nhiễm sắc thể giới tính. Hiệu năng của NIPT cao nhất đối với trisomy 21; đối với trisomy 18, trisomy 13 và các bất thường nhiễm sắc thể giới tính, độ chính xác có thể thay đổi tùy loại bất thường, cỡ mẫu và nền tảng kỹ thuật [4, 20]. Các xét nghiệm NIPT mở rộng (NIPT-plus) hiện nay còn hướng tới phát hiện lệch bội nhiễm sắc thể thường hiếm gặp và các vi mất/vi lặp đoạn có kích thước đủ lớn [21]. Ngoài sàng lọc lệch bội, cffDNA còn có thể được dùng để xác định giới tính thai nhi trong một số bệnh di truyền liên kết nhiễm sắc thể X, ví dụ bệnh máu khó đông, hoặc xác định tình trạng RhD của thai ở thai phụ Rh âm tính nhằm hỗ trợ dự phòng bất đồng nhóm máu mẹ - con [21].

1.1.3. Các yếu tố ảnh hưởng đến tỷ lệ DNA thai tự do

Tỷ lệ DNA thai tự do (fetal fraction - FF) trong huyết tương mẹ chịu ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố, bao gồm đặc điểm của mẹ, tuổi thai và hoạt động của nhau thai. Trong đó, tuổi thai và chỉ số khối cơ thể (BMI) của mẹ là hai yếu tố thường được ghi nhận có liên quan rõ đến FF. Nghiên cứu của Ashoor và cộng sự cho thấy cân nặng mẹ có tương quan nghịch với tỷ lệ DNA thai tự do; ở thai phụ thừa cân hoặc béo phì, thể tích máu lớn hơn và sự gia tăng DNA nền từ mô mẹ, đặc biệt từ mô mỡ

và tế bào máu, có thể làm giảm tỷ lệ cffDNA trong tổng cfDNA [22]. Bên cạnh yếu tố sinh học, giai đoạn tiền phân tích cũng ảnh hưởng đáng kể đến FF đo được. Huyết tương thường phù hợp hơn huyết thanh vì quá trình đông máu hoặc ly giải bạch cầu có thể làm tăng DNA có nguồn gốc từ mẹ, từ đó làm giảm tỷ lệ FF. Tương tự, việc chậm tách huyết tương hoặc bảo quản, vận chuyển mẫu không tối ưu có thể gây ly giải tế bào máu mẹ và làm sai lệch định lượng [23]. Một số báo cáo ca cũng cho thấy thuốc dùng kèm, đặc biệt thuốc chống đông, có thể làm giảm FF, gây kết quả không kết luận được hoặc làm tăng nguy cơ âm tính giả trong một số trường hợp [24].

1.2. BẤT THƯỜNG NHIỄM SẮC THỂ Ở THAI NHI

1.2.1. Khái niệm và phân loại bất thường nhiễm sắc thể

Trong giai đoạn đầu của di truyền học người, do hạn chế của kỹ thuật kính hiển vi và phương pháp chuẩn bị tiêu bản, số lượng nhiễm sắc thể của người từng được cho là 48 [25]. Đến năm 1956, Joe Hin Tjio và Albert Levan, thông qua nghiên cứu trên tế bào phôi thai người, đã xác định chính xác bộ NST người gồm 46 chiếc. Phát hiện này mở ra nền tảng quan trọng cho di truyền học người và y học hiện đại [25, 26]. Theo Hệ thống danh pháp quốc tế về tế bào di truyền người (ISCN), bất thường nhiễm sắc thể được hiểu là sự sai lệch so với bộ NST bình thường 46,XX ở nữ và 46,XY ở nam [27]. Bất thường có thể là thay đổi về số lượng, như 47,XXX, 45,X, 47,XXY, 47,XX,+13,... hoặc thay đổi về cấu trúc, như mất đoạn, lặp đoạn, chuyển đoạn. Những bất thường này có thể được phát hiện bằng các kỹ thuật di truyền khác nhau, bao gồm karyotype, FISH và xét nghiệm vi mảng nhiễm sắc thể. Về cơ bản, ISCN phân loại bất thường NST thành ba nhóm chính: bất thường số lượng, bất thường cấu trúc và thể khảm [27].

1.2.1.1. Bất thường số lượng nhiễm sắc thể

Bất thường số lượng NST là tình trạng số lượng NST khác với bộ NST bình thường. Nhóm này thường được chia thành hai dạng chính: lệch bội và đa bội. Ở người bình thường, tế bào lưỡng bội (2n) có 46 NST, gồm 22 cặp NST thường và 1 cặp NST giới tính. Lệch bội thường gặp nhất ở dạng monosomy (thiếu một bản sao NST) hoặc trisomy (có thêm một bản sao NST). Lệch bội có thể xảy ra ở NST thường,

như trisomy 13, 18, 21, hoặc ở NST giới tính, như 45,X; 47,XXY; 47,XXX; 47,XYY [28-30]. Đa bội hiếm gặp hơn, do toàn bộ NST tăng thêm một bộ, điển hình là tam bội 69,XXX/XXY/XYY. Trên siêu âm, thai đa bội thường có nhiều bất thường hình thái như dính ngón tay, ngón chân, bất thường não, bất thường tuyến thượng thận hoặc cơ quan sinh dục. Phần lớn các trường hợp dẫn đến sảy thai và ít gặp ở thai đủ tháng [31, 32].

1.2.1.2. Bất thường cấu trúc nhiễm sắc thể

Bất thường cấu trúc NST là tình trạng một hoặc nhiều NST bị thay đổi về hình dạng hoặc sự sắp xếp vật chất di truyền. Nguyên nhân có thể liên quan đến sai sót trong phân chia tế bào, yếu tố di truyền từ bố mẹ hoặc tác động của một số yếu tố môi trường. Về mặt hậu quả di truyền, bất thường cấu trúc thường được chia thành hai nhóm: bất thường cân bằng và bất thường mất cân bằng [27].

1.2.1.2.1. Bất thường cấu trúc cân bằng

Ở bất thường cấu trúc cân bằng, tổng lượng vật chất di truyền không thay đổi, nhưng vị trí của các đoạn NST bị sắp xếp lại. Các dạng thường gặp gồm chuyển đoạn tương hỗ, chuyển đoạn Robertson và đảo đoạn. Do không có thừa hoặc thiếu DNA rõ rệt, người mang bất thường cân bằng thường không có biểu hiện lâm sàng hoặc chỉ biểu hiện nhẹ [33-35]. Tuy nhiên, điểm gãy có thể làm gián đoạn gen hoặc ảnh hưởng đến điều hòa gen. Quan trọng hơn, người mang bất thường cân bằng có nguy cơ tạo giao tử không cân bằng, làm tăng nguy cơ sảy thai liên tiếp, thai lưu hoặc sinh con có dị tật bẩm sinh [36]. Tại Việt Nam, Triệu Tiến Sang và cộng sự (2025) khảo sát 19.191 bệnh nhân nữ và 18.584 bệnh nhân nam đến thăm khám hỗ trợ sinh sản tại Viện Mô phôi lâm sàng Quân đội và Bệnh viện Nam học và Hiếm muộn. Nghiên cứu ghi nhận biến thể đảo đoạn nhiễm sắc thể 9 là biến thể phổ biến, trong đó inv(9)(p11q13) có tần suất gần tương đương giữa hai giới: 174 nữ (0,907%) và 176 nam (0,947%) [37]. Bên cạnh đó, Alhalabi và cộng sự (2023) cũng cho thấy đảo đoạn quanh tâm NST 9 có thể liên quan đến sảy thai tái phát và vô sinh, từ đó nhấn mạnh vai trò của tư vấn di truyền khi phát hiện bất thường này ở các cặp vợ chồng cần hỗ trợ sinh sản [38, 39].

1.2.1.2.2. Bất thường cấu trúc mất cân bằng

Bất thường cấu trúc mất cân bằng là nhóm bất thường làm thay đổi lượng vật chất di truyền, bao gồm mất đoạn, lặp đoạn, nhiễm sắc thể vòng, nhiễm sắc thể đều vai hoặc các marker chromosome. Những thay đổi này làm thay đổi liều lượng gen và có thể gây kiểu hình nặng, liên quan đến đa dị tật, biến chứng thai kỳ hoặc chậm phát triển [40]. Trong nghiên cứu của Jiaying Yuan và cộng sự (2023) đăng trên Human Reproduction, nhóm tác giả phân tích nhiễm sắc thể của 17.054 bệnh nhân vô sinh, gồm 8.721 nam và 8.333 nữ. Vô sinh được định nghĩa là không có thai sau 12 tháng quan hệ đều đặn, không sử dụng biện pháp tránh thai. Kết quả cho thấy ở nam giới, bất thường số lượng NST giới tính chiếm tỷ lệ lớn, trong đó hội chứng Klinefelter (47,XXY) là dạng nổi bật và phần lớn bệnh nhân có biểu hiện vô tình (95,1%; 58/61) [41].

1.2.1.3. Bất thường dạng khảm

Khảm nhiễm sắc thể là tình trạng trong cùng một cá thể tồn tại từ hai dòng tế bào trở lên có bộ NST khác nhau, thường gồm một dòng tế bào bình thường và một dòng tế bào bất thường [27]. Trong chẩn đoán trước sinh, khảm NST phát hiện từ dịch ối được ước tính gặp khoảng 1-2% các trường hợp chọc ối [42, 43]. Kiểu hình của thể khảm thường nhẹ hơn hoặc không điển hình so với bất thường toàn phần, nhưng mức độ biểu hiện rất thay đổi tùy tỷ lệ và phân bố dòng tế bào bất thường. Một báo cáo tại Đài Loan mô tả thai phụ 35 tuổi được chọc ối ở tuần 17 do tuổi mẹ cao, kết quả cho thấy kiểu nhiễm sắc thể 47,XX,+20[8]/46,XX[23]. Bố mẹ có kiểu nhiễm sắc thể bình thường và siêu âm thai không ghi nhận bất thường. Chọc ối lại ở tuần 20 cho kết quả 47,XX,+20[2]/46,XX[19]. Trẻ sinh ra phát triển tốt đến 2 tuổi, phát triển tâm thần - vận động bình thường; xét nghiệm máu ngoại vi ghi nhận kiểu nhiễm sắc thể 46,XX ở 40/40 tế bào lympho [44].

1.2.2. Tần suất xuất hiện bất thường

Theo nghiên cứu trên 681.590 ca sinh tại tỉnh Chiết Giang (Trung Quốc) giai đoạn 2014-2020, tần suất bất thường NST nói chung tăng từ 12,09/10.000 ca sinh năm 2014 lên 39,22/10.000 ca sinh năm 2020. Trong các bất thường được ghi nhận,

hội chứng Down (trisomy 21) là dạng thường gặp nhất, chiếm 49,4% tổng số trường hợp. Tần suất trisomy 21 cũng tăng theo thời gian, từ 7,19/10.000 lên 15,71/10.000 ca sinh. Bất thường NST giới tính dao động 1,70-7,30/10.000 ca sinh, trong khi trisomy 13 và trisomy 18 duy trì ở mức thấp hơn, lần lượt 0,20-0,74/10.000 và 1,80-3,22/10.000 ca sinh [45]. Một nghiên cứu khác phân tích xu hướng trong 20 năm trên 6,1 triệu ca sinh ghi nhận tỷ lệ mắc trisomy 21 là 22/10.000 ca sinh, trisomy 18 là 5/10.000 ca sinh và trisomy 13 là 2/10.000 ca sinh. Nguy cơ sinh con mắc bất thường NST tăng rõ theo tuổi mẹ: so với nhóm 25-29 tuổi, nhóm mẹ >40 tuổi có nguy cơ sinh con mắc hội chứng Down cao gấp 17,3 lần, hội chứng Edwards cao gấp 18,9 lần và hội chứng Patau cao gấp 10,2 lần [46].

1.2.3. Một số bất thường nhiễm sắc thể thường gặp

1.2.3.1. Trisomy 13 – hội chứng Patau

Về kiểu hình, T13 thường gây đa dị tật nặng, ảnh hưởng nhiều cơ quan. Các biểu hiện điển hình hay được mô tả gồm: dị tật não và khe hở môi - vòm, bất thường mắt, thừa ngón, dị tật tim bẩm sinh, bất thường thận - tiết niệu và có thể gặp thoát vị rốn; trẻ thường giảm trương lực cơ và chậm phát triển nặng nếu sống sót [47]. Trong ba thể trisomy thường gặp, T13 là dạng ít gặp nhất. Tại Chiết Giang, tỷ lệ phát hiện T13 chỉ khoảng 0,20-0,74/10.000 ca sinh. Nghiên cứu tại châu Âu ghi nhận tỷ lệ hiện mắc chung là 2,0/10.000, nhưng tỷ lệ trẻ sinh sống chỉ còn 0,48/10.000 [45, 46]

1.2.3.2. Trisomy 18 – hội chứng Edwards

Trisomy 18 thường có biểu hiện đặc trưng như bàn tay nắm chặt, ngón trỏ chồng lên ngón giữa, ngón út chồng lên ngón áp út và bàn chân hình đế bập bênh. Trẻ thường nhẹ cân nặng, đầu nhỏ, kèm dị tật tim và thận. Phần lớn trẻ mắc T18 không sống quá 1 tuổi do các vấn đề sức khỏe nghiêm trọng [48]. Nguy cơ mắc T18 tăng rõ theo tuổi mẹ; theo nghiên cứu tại châu Âu, nhóm mẹ trên 40 tuổi có nguy cơ cao gấp 18,9 lần so với nhóm mẹ trẻ. Tỷ lệ thai lưu tự nhiên của T18 cũng rất cao. Trong nghiên cứu tại Trung Quốc, tỷ lệ phát hiện T18 dao động khoảng 1,80-3,22/10.000 ca sinh [45, 46].

1.2.3.3. Trisomy 21 – hội chứng Down

Trẻ mắc hội chứng Down thường có một số đặc điểm hình thái gợi ý như mặt phẳng, khe mắt xếch lên trên, mũi tẹt, tai nhỏ, lưỡi có xu hướng thè ra ngoài, giảm trương lực cơ, chậm phát triển vận động - ngôn ngữ và khuyết tật trí tuệ với mức độ thay đổi [49, 50]. T21 là bất thường phổ biến nhất, chiếm 49,4% tổng số ca bất thường nhiễm sắc thể được ghi nhận. Tại Chiết Giang, tỷ lệ phát hiện T21 tăng từ 7,19 lên 15,71/10.000 ca sinh trong giai đoạn nghiên cứu. Nghiên cứu tại châu Âu giai đoạn 1990-2009 cho thấy, mặc dù số thai mắc T21 tăng do tuổi mẹ cao hơn, tỷ lệ trẻ sinh sống mắc bệnh vẫn tương đối ổn định nhờ sàng lọc và chẩn đoán trước sinh; tại một số quốc gia, khoảng 88-89% trường hợp được chẩn đoán trước sinh dẫn đến quyết định đình chỉ thai kỳ [45, 46].

1.2.3.4. Bất thường nhiễm sắc thể giới tính

Các bất thường nhiễm sắc thể giới tính thường gặp bao gồm 47,XXY (hội chứng Klinefelter), 45,X (hội chứng Turner), 47,XYY (hội chứng Jacob) và 47,XXX (hội chứng siêu nữ). Hội chứng Klinefelter (KS) có tần suất khoảng 1/500–1/600 trẻ nam sinh sống, trong đó kiểu nhiễm sắc thể 47,XXY là biến thể phổ biến nhất [51]. ngoài ra, một số dạng hiếm hơn như 48,XXXY có tần suất ước tính khoảng 1/18.000–1/100.000 trẻ nam [52]. Người mắc KS thường có tinh hoàn nhỏ, vô tinh trùng và suy sinh dục tiên phát kèm tăng gonadotropin (hypergonadotropic hypogonadism). Do biểu hiện lâm sàng ở tuổi nhỏ có thể kín đáo, nhiều trường hợp không được phát hiện trong thời thơ ấu hoặc tuổi vị thành niên mà chỉ được chẩn đoán khi đánh giá vô sinh ở tuổi trưởng thành. Hội chứng Turner (TS) là rối loạn nhiễm sắc thể giới tính ở nữ, xảy ra khi một nhiễm sắc thể X bị mất hoàn toàn hoặc một phần; thể điển hình có kiểu nhiễm sắc thể 45,X thay vì 46,XX. Các biểu hiện thường gặp gồm vóc dáng thấp, suy buồng trứng, giảm khả năng sinh sản và một số bất thường phát triển khác [53]. Tổng hợp các nghiên cứu trên thế giới cho thấy tần suất TS khoảng 25–50/100.000 phụ nữ [54]. Bệnh có thể được chẩn đoán muộn, trung bình khoảng 15 tuổi, và vẫn có một tỷ lệ không nhỏ trường hợp không được phát hiện trong suốt cuộc đời [55]. Chẩn đoán TS dựa trên xét nghiệm di truyền, có thể thực hiện từ giai đoạn trước sinh hoặc sau sinh khi trẻ có biểu hiện gợi ý. Việc quản lý và chăm sóc trẻ em gái, phụ nữ

mắc TS đã được hướng dẫn trong khuyến cáo quốc tế năm 2016, trong đó thường bao gồm điều trị hormone tăng trưởng để cải thiện chiều cao và estrogen để khởi phát, duy trì phát triển dậy thì [54]. Hội chứng Jacob, hay hội chứng 47,XYY, là một dạng lệch bội nhiễm sắc thể giới tính ở nam, với tần suất khoảng 10/10.000 trẻ nam sinh sống [56]. Tình trạng này thường xuất hiện do sai sót ngẫu nhiên trong quá trình phân chia tế bào sinh dục nam, đặc biệt là không phân ly nhiễm sắc thể ở giảm phân II, tạo ra tinh trùng mang thêm một nhiễm sắc thể Y [57]. Do biểu hiện lâm sàng đa dạng và nhiều trường hợp không có triệu chứng rõ, 47,XYY thường khó nhận diện sớm và có thể chỉ được phát hiện ở tuổi thiếu niên hoặc trưởng thành, khi đánh giá các vấn đề về phát triển, hành vi hoặc sinh sản [58]. Một số biểu hiện có thể gặp gồm rối loạn tăng động giảm chú ý (ADHD), rối loạn phổ tự kỷ (ASD) và khó khăn trong tương tác xã hội [59]. Cuối cùng, hội chứng 47,XXX là một dạng lệch bội nhiễm sắc thể giới tính ở nữ, trong đó mỗi tế bào có ba nhiễm sắc thể X thay vì hai, với tần suất ước tính khoảng 10/10.000 trẻ gái sinh sống. Tuy nhiên, do biểu hiện thường nhẹ hoặc không đặc hiệu, nhiều trường hợp không được chẩn đoán; một tổng quan kinh điển ước tính chỉ khoảng 10% trường hợp được phát hiện trên lâm sàng [60]. Về kiểu hình, 47,XXX có phổ biểu hiện rộng và thường không có dấu hiệu đặc trưng rõ ngay lúc sinh. Một số người có tầm vóc cao, giảm trương lực cơ, cong ngón V, khớp quá duỗi hoặc bàn chân bẹt, nhưng đa số không có dị dạng nổi bật [60].

1.2.4. Nhóm bất thường nhiễm sắc thể hiếm gặp

Ngoài các bất thường nhiễm sắc thể thường gặp như trisomy 21, 18 và 13, xét nghiệm NIPT mở rộng còn có thể phát hiện một số bất thường nhiễm sắc thể hiếm. Trong các nghiên cứu lớn trên thế giới, trisomy 7 thường là bất thường được ghi nhận nhiều nhất, sau đó là trisomy 15, 16 và 22. Tuy nhiên, ý nghĩa lâm sàng của nhóm bất thường này chưa được rõ, vì kết quả NIPT không phải lúc nào cũng phản ánh bất thường thật sự ở thai nhi. Một số trường hợp có thể liên quan đến khả năng giới hạn ở nhau thai, khả năng thai–nhau, khả năng thật sự ở thai. Các bất thường này có thể liên quan đến thai chậm tăng trưởng, dị tật hình thái, sảy thai, thai lưu hoặc sinh non tuy nhiên giá trị tiên đoán dương còn thấp. Một phân tích gộp trên 31 nghiên cứu cho thấy PPV

của xét nghiệm cfDNA đối với RATs chỉ khoảng 11,46%, vì vậy khi NIPT báo nguy cơ cao với bất thường nhiễm sắc thể hiếm, cần tư vấn di truyền, theo dõi siêu âm sát và xác nhận bằng xét nghiệm chẩn đoán xâm lấn phù hợp trước khi đưa ra kết luận cuối cùng [61-63].

1.2.5. Các yếu tố ảnh hưởng đến bất thường nhiễm sắc thể

1.2.5.1. Bất thường do tuổi mẹ

Tuổi mẹ cao là một trong những yếu tố nguy cơ dịch tễ học quan trọng nhất đối với các bất thường nhiễm sắc thể dạng lệch bội ở thai nhi, với cơ chế chính liên quan đến quá trình lão hóa của noãn bào [64]. Các nghiên cứu tổng quan trước đây cũng như gần đây đều cho thấy phần lớn lệch bội ở người có nguồn gốc từ phía mẹ, và tần suất sai phân ly tăng rõ ở cuối tuổi sinh sản [65, 66]. Theo thời gian, phức hợp protein cohesin - có vai trò giữ các nhiễm sắc tử chị em gắn kết với nhau và giúp nhiễm sắc thể định hướng chính xác trên thoi vô sắc - bị suy giảm cả về số lượng và chức năng. Sự suy yếu này làm các cặp nhiễm sắc thể dễ tách rời sớm bất thường, từ đó tăng nguy cơ phân ly không đều trong giảm phân I, hậu quả là tạo ra noãn mang 24 hoặc 22 nhiễm sắc thể thay vì 23 nhiễm sắc thể. Bên cạnh đó, ty thể trong noãn bào lớn tuổi cũng hoạt động kém hiệu quả hơn, khiến nguồn năng lượng cung cấp cho quá trình hình thành và vận hành thoi phân bào không còn ổn định. Khi thoi phân bào bất thường, nhiều cực hoặc kém bền vững, vật liệu di truyền có thể phân bố sai lệch trong quá trình giảm phân [64, 65].

1.2.5.2. Bất thường do di truyền từ bố mẹ

Khoảng 3-5% trường hợp bất thường nhiễm sắc thể ở con, đặc biệt trong nhóm sảy thai liên tiếp, có liên quan đến bố hoặc mẹ mang bất thường nhiễm sắc thể cân bằng như chuyển đoạn cân bằng hoặc đảo đoạn [67]. Người mang bất thường cân bằng thường có kiểu hình bình thường, nhưng trong quá trình giảm phân có thể tạo ra giao tử mất cân bằng. Sau thụ tinh, phôi có thể mang bất thường cấu trúc hoặc số lượng nhiễm sắc thể, dẫn đến sảy thai liên tiếp hoặc sinh con có dị tật. Phần lớn bất thường nhiễm sắc thể ở thai là ngẫu nhiên (de novo), phát sinh do sai sót trong giảm phân tạo giao tử hoặc do lỗi nguyên phân sớm sau thụ tinh; riêng trisomy 21, các

trường hợp de novo được ước tính chiếm khoảng 95%. Vì vậy, ngay cả khi không có tiền sử gia đình và bố mẹ không mang bất thường cân bằng, thai vẫn có thể xuất hiện T21, T18 hoặc T13 do sai phân ly nhiễm sắc thể xảy ra ngẫu nhiên [64, 68].

1.2.5.3. Bất thường do tác động của môi trường

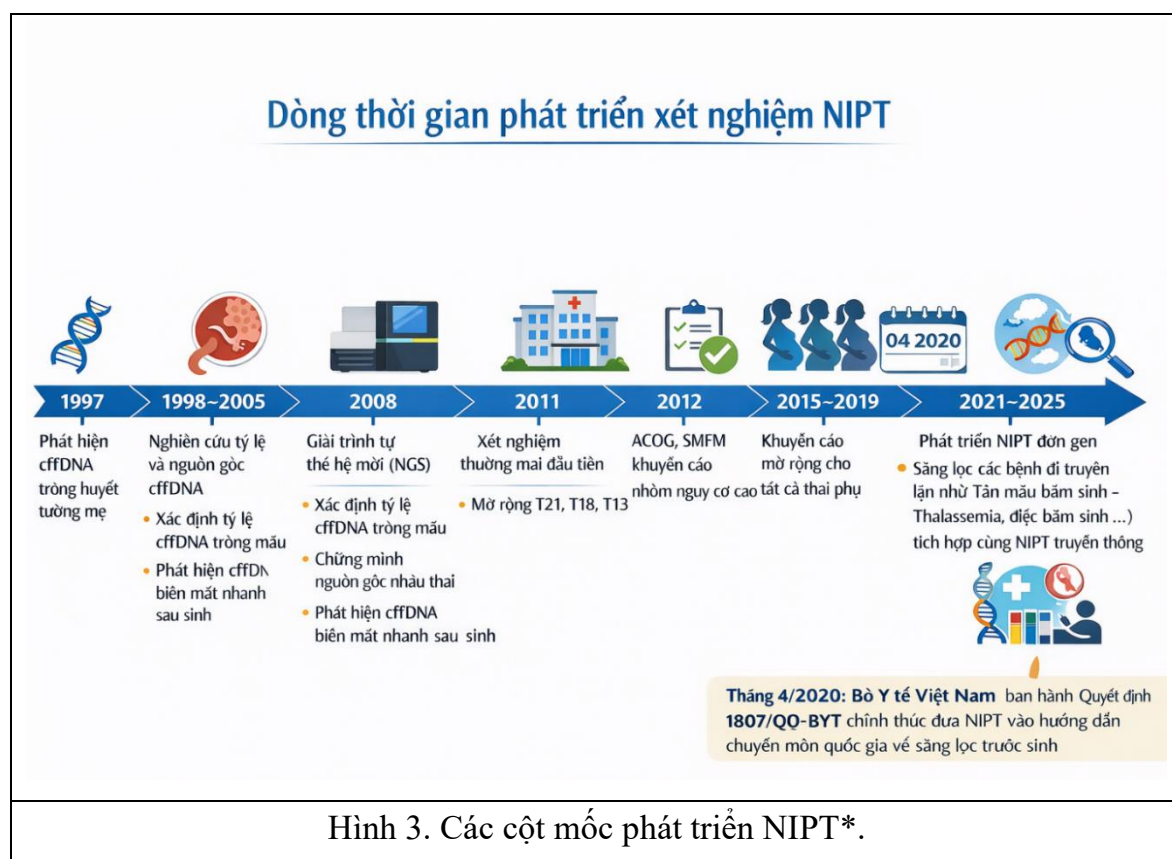
Yếu tố môi trường có thể tác động lên nhiễm sắc thể thông qua các cơ chế gây độc gen (genotoxicity), bao gồm tạo gốc tự do (oxidative stress) gây đứt gãy trực tiếp chuỗi DNA hoặc can thiệp vào quá trình trùng hợp vi ống (microtubule polymerization) - thành phần cấu tạo thoi vô sắc. Một số nghiên cứu dịch tễ học phân tử ghi nhận mối liên quan giữa phơi nhiễm thuốc trừ sâu, dung môi hữu cơ như benzen và kim loại nặng với sự gia tăng tỷ lệ tinh trùng hoặc noãn mang bất thường nhiễm sắc thể. Ngoài ra, các tác nhân này có thể làm thay đổi methyl hóa DNA và các cơ chế biểu sinh khác, khiến bộ gen dễ bị tổn thương hơn [64, 69]. Trong nghiên cứu của Colleen Keen, tác giả phân tích nhóm nghề nghiệp của mẹ gồm 907 trường hợp bệnh và 977 trường hợp đối chứng nhằm đánh giá mối liên quan giữa phơi nhiễm nghề nghiệp và hội chứng Down (trisomy 21) ở con. Kết quả cho thấy nhóm công nhân sản xuất có nguy cơ gặp lỗi không phân ly ở giảm phân II cao gấp 3,15 lần so với nhóm chứng; trong khi đó, nhóm làm nghề khoa học có nguy cơ gặp lỗi ở giảm phân I cao hơn 5,72 lần so với các ngành nghề khác [70].

1.3. SÀNG LỌC TRƯỚC SINH KHÔNG XÂM LẤN NIPT

1.3.1. Nguồn gốc và lịch sử phát triển của NIPT

Xét nghiệm sàng lọc trước sinh không xâm lấn (Non-Invasive Prenatal Testing - NIPT) là một bước tiên quan trọng của di truyền học trước sinh. Nền tảng của NIPT bắt đầu từ năm 1997, khi DNA thai tự do lần đầu được phát hiện trong huyết tương mẹ thông qua các trình tự đặc hiệu của nhiễm sắc thể Y. Trong giai đoạn 1998–2005, các nghiên cứu tiếp theo làm rõ tỷ lệ cfDNA trong máu mẹ, nguồn gốc chủ yếu từ nhau thai và đặc điểm cfDNA biến mất nhanh sau sinh. Đến năm 2008, việc ứng dụng giải trình tự thế hệ mới (NGS, massively parallel sequencing) vào phân tích DNA huyết tương mẹ đã mở ra khả năng phát hiện lệch bội nhiễm sắc thể dựa trên nguyên lý đếm số bản sao. Từ năm 2011, các xét nghiệm NIPT thương mại đầu

tiên được triển khai, song song với nhiều nghiên cứu đa trung tâm chứng minh hiệu năng cao đối với trisomy 21 và sau đó mở rộng sang trisomy 18, trisomy 13. Năm 2012, ACOG và SMFM khuyến cáo sử dụng NIPT cho nhóm thai phụ nguy cơ cao; giai đoạn sau đó, chỉ định dần được mở rộng cho nhiều nhóm thai phụ hơn. Tại Việt Nam, Quyết định số 1807/QĐ-BYT ban hành tháng 4 năm 2020 đã đưa NIPT vào hướng dẫn chuyên môn quốc gia về sàng lọc trước sinh. Những năm gần đây, NIPT tiếp tục được phát triển theo hướng mở rộng phạm vi sàng lọc, trong đó có các bệnh đơn gen và một số bệnh di truyền phổ biến, nhằm bổ sung cho xét nghiệm NIPT truyền thống.



1.3.2. Nguyên lý của NIPT trong giải trình tự gen thế hệ mới

Nguyên lý của NIPT dựa trên việc phân tích các đoạn DNA tự do trong huyết tương mẹ bằng giải trình tự gen thế hệ mới. Từ khoảng tuần thai thứ 10 trở đi, tỷ lệ cfDNA trong máu mẹ thường đạt mức đủ để phân tích bằng các kỹ thuật sinh học phân tử có độ nhạy cao. Trong quy trình xét nghiệm, cfDNA được tách chiết từ huyết tương, xây dựng thư viện và giải trình tự song song hàng triệu đoạn DNA ngắn bằng

công nghệ massively parallel sequencing. Các đoạn đọc thu được được ánh xạ lên bộ gen tham chiếu của người, sau đó đếm số lượng reads (độ đọc) tương ứng với từng nhiễm sắc thể. Cốt lõi của phương pháp là so sánh tỷ lệ reads của mỗi nhiễm sắc thể trong mẫu xét nghiệm với tỷ lệ kỳ vọng ở quần thể bình thường. Nếu thai mang lệch bội, ví dụ trisomy 21, số reads ánh xạ lên nhiễm sắc thể 21 sẽ tăng nhẹ nhưng có ý nghĩa thống kê. Dữ liệu sau đó được chuẩn hóa bằng thuật toán sinh tin học và tính các chỉ số thống kê, phổ biến nhất là z-score, để đánh giá mức độ sai lệch. Do cfDNA chỉ chiếm một phần trong tổng cfDNA của mẹ, thay đổi về số bản sao nhiễm sắc thể thường rất nhỏ, đòi hỏi quy trình giải trình tự và phân tích dữ liệu phải có độ chính xác cao. Vì bản chất là suy luận thống kê từ cfDNA trong máu mẹ, NIPT được xếp vào nhóm xét nghiệm sàng lọc; các kết quả nguy cơ cao cần được xác nhận bằng xét nghiệm chẩn đoán trước sinh xâm lấn như chọc ối hoặc sinh thiết gai nhau [71-73].

1.3.3. Độ tin cậy và hạn chế của xét nghiệm NIPT

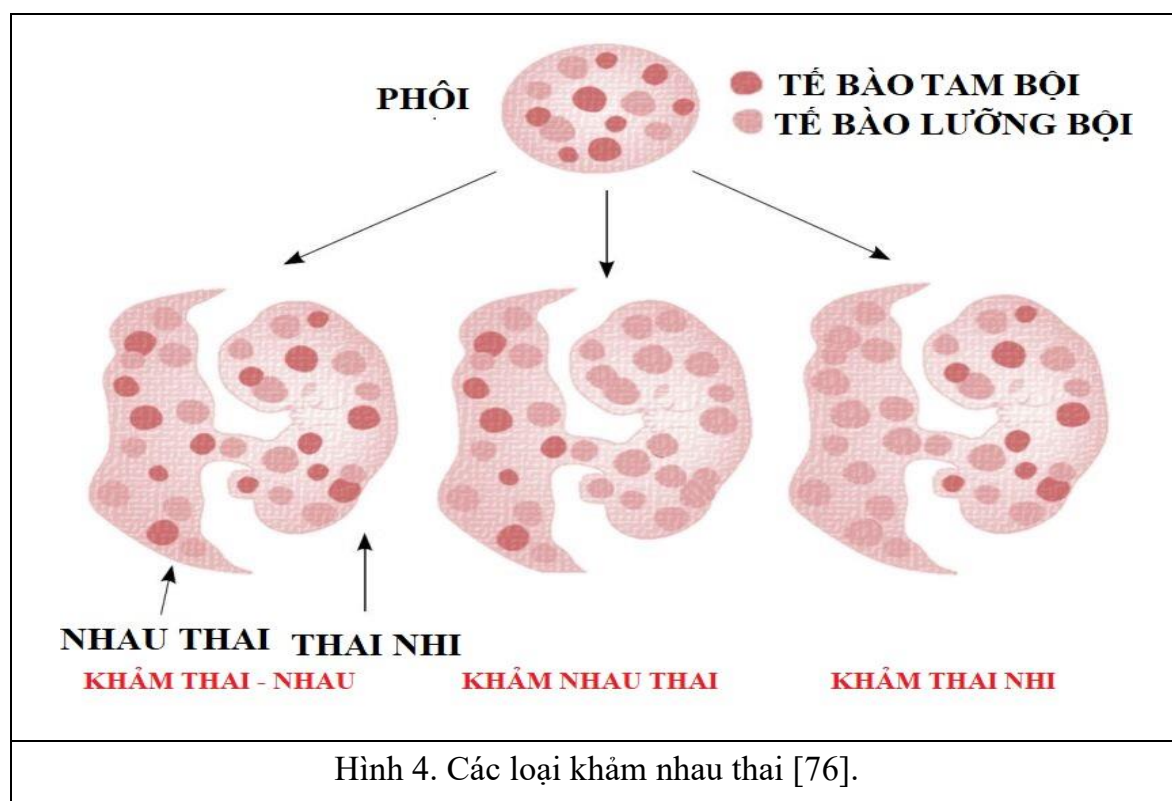
1.3.3.1. Độ tin cậy của xét nghiệm NIPT

NIPT dựa trên giải trình tự gen thể hệ mới cho phép đánh giá nguy cơ bất thường trên 24 nhiễm sắc thể, gồm 22 nhiễm sắc thể thường và hai nhiễm sắc thể giới tính X, Y, thông qua việc đếm số lượng đoạn đọc cfDNA trong huyết tương mẹ. Độ tin cậy của xét nghiệm cao nhất đối với các lệch bội thường gặp, đặc biệt là trisomy 21, với độ nhạy và độ đặc hiệu thường trên 99%. Đối với trisomy 18 và trisomy 13, hiệu năng vẫn cao nhưng có thể dao động tùy nghiên cứu, nền tảng kỹ thuật và đặc điểm quần thể được xét nghiệm [4-7, 20]. Khi mở rộng sang nhóm lệch bội nhiễm sắc thể thường hiếm gặp (Rare Autosomal Trisomies - RATs), bao gồm các bất thường ở 19 nhiễm sắc thể thường còn lại như trisomy 7, 16 hoặc 22. Dù NGS có thể ghi nhận tín hiệu bất thường, giá trị tiên đoán dương thực tế của nhóm này thường thấp hơn đáng kể so với T21, T18 và T13 [74].

1.3.3.2. Hạn chế của xét nghiệm NIPT

Mặc dù có độ chính xác cao, NIPT không phải là xét nghiệm chẩn đoán và vẫn có những giới hạn cần được tư vấn rõ cho thai phụ. Một yếu tố quan trọng là tỷ lệ DNA thai trong máu mẹ. Khi fetal fraction thấp, thường dưới 4%, nguy cơ âm tính

giả có thể tăng lên hoặc mẫu xét nghiệm không đủ điều kiện trả kết quả [22]. Tuổi thai nhỏ, BMI mẹ cao, song thai hoặc tình trạng thai lưu một phần đều có thể làm giảm fetal fraction [22, 75]. Bên cạnh đó, khảm nhau thai khu trú (confined placental mosaicism) là một nguyên nhân quan trọng gây dương tính giả hoặc âm tính giả, vì cfDNA trong máu mẹ chủ yếu có nguồn gốc từ nhau thai và không phải lúc nào cũng phản ánh hoàn toàn bộ gen của thai nhi [5]. Ngoài ra, bất thường nhiễm sắc thể ở mẹ, bệnh lý ác tính, truyền máu hoặc ghép tạng cũng có thể làm sai lệch kết quả NIPT.



1.3.4. Các yếu tố ảnh hưởng tới kết quả xét nghiệm NIPT

1.3.4.1. Yếu tố tiền phân tích và thao tác kỹ thuật

Các bước trước và trong quá trình xét nghiệm có ảnh hưởng trực tiếp đến chất lượng kết quả NIPT. Lấy máu không đúng quy trình, chậm tách huyết tương hoặc dùng ống thu mẫu không phù hợp có thể làm tăng DNA tự do có nguồn gốc từ mẹ, từ đó làm giảm tỷ lệ cffDNA tương đối và làm tăng nguy cơ kết quả không kết luận được hoặc âm tính giả [77]. Ngoài ra, kỹ năng của nhân viên xét nghiệm trong các bước tách chiết cfDNA, xây dựng thư viện, kiểm soát nhiễm chéo và quản lý mẫu

cũng là yếu tố quan trọng để bảo đảm tính lặp lại và độ tin cậy của dữ liệu giải trình tự.

1.3.4.2. Yếu tố thiết bị kỹ thuật

Ở phía thiết bị và quy trình NGS, chất lượng dữ liệu phụ thuộc vào số reads hữu hiệu, độ sâu giải trình tự, độ phủ, chất lượng thư viện, sai lệch GC (GC bias), thuật toán chuẩn hóa và mô hình thống kê dùng để tính z-score. Nhiều nghiên cứu cho thấy việc tăng độ sâu giải trình tự hoặc tối ưu quy trình để giảm GC bias có thể cải thiện hiệu năng phát hiện và giảm nhiễu, đặc biệt khi mở rộng sang các bất thường hiếm hoặc CNV. Lợi ích thực tế còn phụ thuộc vào mục tiêu sàng lọc, chất lượng mẫu đầu vào và quy trình tiền phân tích [4, 20, 78].

1.4. CÔNG NGHỆ GIẢI TRÌNH TỰ GEN THẾ HỆ MỚI Ion Proton

1.4.1. Khái quát về giải trình tự gen thế hệ mới

Giải trình tự gen thế hệ mới (Next-Generation Sequencing, NGS) là nhóm công nghệ cho phép giải trình tự song song số lượng lớn phân tử DNA hoặc RNA trong cùng một lần chạy. So với giải trình tự Sanger truyền thống, NGS cho thông lượng cao hơn, thời gian phân tích ngắn hơn và chi phí trên mỗi base thấp hơn. Về quy trình chung, mẫu axit nucleic được chuẩn bị thành thư viện bằng cách phân mảnh DNA, gắn adapter và, tùy mục tiêu xét nghiệm, có thể làm giàu vùng đích trước khi giải trình tự. Dữ liệu sau khi chạy máy gồm các đoạn đọc ngắn hoặc dài, sau đó được xử lý bằng các phần mềm tin sinh học để căn chỉnh lên hệ gen tham chiếu, lắp ráp, phát hiện biến thể hoặc định lượng biểu hiện gen [79, 80]. Nhờ khả năng thiết kế linh hoạt, NGS được sử dụng trong giải trình tự toàn bộ hệ gen (WGS), giải trình tự vùng mã hóa (WES), panel gen mục tiêu, RNA-seq, metagenomics, epigenomics và nhiều ứng dụng lâm sàng như di truyền học, ung thư, bệnh truyền nhiễm và sàng lọc trước sinh [81].

1.4.2. Nguyên lý công nghệ giải trình tự gen Ion Proton

Ion Proton là một nền tảng giải trình tự bán dẫn (ion semiconductor sequencing). Khác với các hệ thống dùng tín hiệu quang học, công nghệ này phát hiện trực tiếp ion hydro (H^+) được giải phóng khi nucleotide được gắn vào mạch

DNA đang tổng hợp [82]. Trước khi chạy máy, DNA được gắn adapter và khuếch đại bằng PCR nhũ tương (emulsion PCR) trên các hạt bead. Sau đó, các hạt bead mang DNA khuôn được nạp vào các giếng vi mô trên chip bán dẫn. Trong quá trình giải trình tự, bốn loại nucleotide (dATP, dTTP, dCTP, dGTP) được lần lượt đưa qua chip. Nếu nucleotide phù hợp với mạch khuôn, DNA polymerase sẽ gắn nucleotide đó vào chuỗi mới và giải phóng H^+ , làm pH trong giếng thay đổi. Sự thay đổi pH này được cảm biến bán dẫn nhạy ion (Ion-Sensitive Field-Effect Transistor - ISFET) ghi nhận và chuyển thành tín hiệu điện. Cường độ tín hiệu phản ánh số nucleotide được gắn trong một chu kỳ, các vùng homopolymer vẫn là điểm dễ gây sai số của công nghệ bán dẫn [82, 83].

1.4.3. So sánh một số nguyên lý giải trình tự gen khác

Công nghệ giải trình tự bán dẫn Ion Torrent của Thermo Fisher Scientific là một đại diện của nhóm phương pháp phát hiện trực tiếp bằng cảm biến ion. Khi so sánh với Sanger, công nghệ huỳnh quang và các nền tảng đọc dài, có thể thấy mỗi phương pháp có thế mạnh và hạn chế riêng. Việc lựa chọn nền tảng giải trình tự vì vậy cần dựa vào mục tiêu xét nghiệm, độ chính xác cần đạt, độ dài đoạn đọc, thông lượng mẫu, thời gian trả kết quả và điều kiện của từng phòng xét nghiệm.

Bảng 1: So sánh giữa các phương pháp giải trình tự				
Thông tin	Giải trình tự Sanger	Giải trình tự bán dẫn	Giải trình tự huỳnh quang	Công nghệ đọc dài

Hãng/Công nghệ	Applied Biosystems	Ion Torrent	Illumina, MGI, GeneMind	PacBio, Oxford Nanopore
Nguyên lý phát hiện	Phát hiện tín hiệu huỳnh quang từ các đoạn DNA bị kết thúc tổng hợp ngẫu nhiên và được phân tách bằng điện di mao quản.	Đo tín hiệu điện từ sự thay đổi pH do ion H ⁺ giải phóng khi nucleotide được gắn vào mạch DNA.	Phát hiện tín hiệu huỳnh quang từ nucleotide được đánh dấu trong mỗi chu kỳ tổng hợp.	PacBio: phát hiện tín hiệu huỳnh quang thời gian thực. Nanopore: đo sự thay đổi dòng điện khi DNA đi qua lỗ nanopore.
Ưu điểm	- Độ chính xác cao, thường dùng để xác nhận kết quả. - Đọc dài khoảng 600-1.000 bp. - Quy trình và phân tích dữ liệu tương đối đơn giản.	- Thời gian chạy nhanh. - Không cần phát hiện huỳnh quang. - Phù hợp với một số xét nghiệm đích và phòng xét nghiệm thông lượng trung bình.	- Độ chính xác cao. - Thông lượng lớn, chi phí trên mỗi base thấp. - Công nghệ phổ biến trong nhiều xét nghiệm NGS hiện nay.	- Đoạn đọc dài, thuận lợi cho lắp ráp hệ gen mới và phát hiện biến thể cấu trúc. - Nanopore có thiết bị nhỏ gọn và có thể giải trình tự theo thời gian thực.

Nhược điểm	- Thông lượng thấp, không phù hợp cho giải trình tự quy mô lớn. - Chi phí trên mỗi base cao hơn NGS. - Hạn chế khi phát hiện biến thể có tần suất thấp.	- Dễ sai số ở vùng homopolymer. - Độ dài đọc và thông lượng thường thấp hơn một số nền tảng huỳnh quang.	- Thời gian chạy có thể kéo dài từ vài giờ đến vài ngày tùy hệ thống. - Chi phí đầu tư ban đầu cao. - Đoạn đọc ngắn gây khó khăn khi phân tích vùng lặp.	- Tỷ lệ lỗi thô cao hơn một số nền tảng đọc ngắn, dù đã được cải thiện. - Cần DNA đầu vào chất lượng tốt. - Chi phí và yêu cầu phân tích dữ liệu tùy thuộc nền tảng.
Ứng dụng	Xác nhận biến thể, giải trình tự gen đơn lẻ, phân tích đoạn đích rõ ràng.	Giải trình tự gen đích, nghiên cứu vi sinh, một số xét nghiệm cần thời gian trả kết quả nhanh.	WGS, WES, RNA-seq, nghiên cứu biểu sinh và các xét nghiệm cần thông lượng lớn.	Lắp ráp de novo, phát hiện biến thể cấu trúc, giải trình tự trực tiếp và phân tích biến đổi biểu sinh.

Công nghệ bán dẫn có ưu thế về tốc độ và chi phí vận hành trong các ứng dụng có mục tiêu rõ ràng. Công nghệ huỳnh quang phù hợp với các nghiên cứu hoặc xét nghiệm cần thông lượng lớn và độ chính xác cao. Giải trình tự Sanger vẫn có vai trò quan trọng trong xác nhận biến thể hoặc giải trình tự các đoạn gen đơn lẻ. Trong khi đó, các công nghệ đọc dài giúp phân tích những vùng hệ gen phức tạp, phát hiện biến thể cấu trúc và hỗ trợ lắp ráp hệ gen mới. Do đó, không có một nền tảng nào phù hợp

cho mọi mục tiêu; lựa chọn công nghệ cần cân nhắc đồng thời yêu cầu chuyên môn, chi phí và điều kiện triển khai thực tế [82, 84-86].

1.4.4. Ứng dụng của hệ thống Ion Proton trong xét nghiệm NIPT

Hệ thống Ion Proton (Thermo Fisher Scientific, Mỹ) từng được ứng dụng trong sàng lọc trước sinh không xâm lấn (NIPT) nhờ khả năng giải trình tự cfDNA trong máu mẹ với thời gian xử lý tương đối nhanh. Trong NIPT, dữ liệu cfDNA, trong đó có cffDNA nguồn gốc từ nhau thai, được phân tích để phát hiện nguy cơ lệch bội nhiễm sắc thể, đặc biệt là trisomy 13, 18 và 21. Ưu điểm của nền tảng bán dẫn là quy trình chạy máy nhanh, không cần phát hiện huỳnh quang và có thể phù hợp với các phòng xét nghiệm có thông lượng trung bình. NIPT vẫn là xét nghiệm sàng lọc dựa trên phân tích thông kê cfDNA trong máu mẹ; kết quả nguy cơ cao cần được xác nhận bằng các phương pháp chẩn đoán xâm lấn như chọc ối hoặc sinh thiết gai nhau. Đối với các lệch bội thường gặp, đặc biệt là trisomy 21, nhiều nghiên cứu trên các nền tảng NGS cho thấy độ nhạy và độ đặc hiệu có thể đạt trên 99% [4, 20].

1.5. MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP TRONG NGHIÊN CỨU NIPT

1.5.1. Phương pháp tách chiết cfDNA

Tách chiết cfDNA là bước đầu tiên và có ảnh hưởng trực tiếp đến chất lượng xét nghiệm NIPT. Nguyên lý hấp phụ axit nucleic lên bề mặt silica trong môi trường có muối chaotropic đã được Boom và cộng sự mô tả từ năm 1990, sau đó được phát triển thành nhiều quy trình tách chiết tự động sử dụng hạt từ phủ silica [87]. Khi huyết tương được trộn với dung dịch ly giải chứa guanidine thiocyanate hoặc guanidine hydrochloride, protein bị biến tính và DNA có thể bám lên bề mặt silica. Hệ thống nam châm sẽ giữ lại các hạt từ đã gắn DNA, trong khi protein, muối dư và các tạp chất khác được loại bỏ qua các bước rửa, thường có ethanol. Cuối cùng, DNA được giải hấp trong đệm có lực ion thấp như TE buffer hoặc nước không có nuclease, tạo nguồn cfDNA tinh sạch cho qPCR, dPCR hoặc giải trình tự thế hệ mới. Trong xét nghiệm NIPT, bước này cần hạn chế tối đa DNA từ tế bào máu mẹ, vì nhiễm DNA mẹ có thể làm giảm tỷ lệ DNA thai tự do và ảnh hưởng đến kết quả phân tích [4, 21-23].

1.5.2. Phương pháp khuếch đại gen qPCR, dPCR

qPCR (PCR định lượng thời gian thực) và dPCR (PCR kỹ thuật số) đều dựa trên nguyên lý khuếch đại DNA, nhưng khác nhau ở cách định lượng tín hiệu. Với qPCR, tín hiệu huỳnh quang được ghi nhận trong từng chu kỳ khuếch đại, nhờ đó có thể ước tính tương đối lượng DNA ban đầu. Trong NIPT, qPCR thường được dùng cho các mục tiêu hỗ trợ như kiểm soát chất lượng thư viện, xác định giới tính thai hoặc sàng lọc yếu tố RhD, hơn là đánh giá lệch bội toàn bộ nhiễm sắc thể [88]. dPCR chia mẫu thành rất nhiều phản ứng nhỏ độc lập, sau đó dùng thống kê Poisson để tính số bản sao DNA một cách tuyệt đối. Cách tiếp cận này giúp phát hiện những khác biệt nhỏ về số lượng bản sao, kể cả khi fetal fraction thấp hơn. Vì vậy, dPCR có thể được sử dụng trong một số xét nghiệm mục tiêu, chẳng hạn phân tích các bất thường số lượng bản sao hoặc hỗ trợ sàng lọc một số lệch bội như trisomy 21, 18 và 13. Phạm vi phân tích của dPCR phụ thuộc vào marker được thiết kế sẵn và không thay thế hoàn toàn các phương pháp giải trình tự trong các xét nghiệm NIPT mở rộng [89].

1.5.3. Phương pháp lai DNA aCGH

Phương pháp lai so sánh bộ gen trên vi mảng (Array Comparative Genomic Hybridization - aCGH) dựa trên việc so sánh cường độ tín hiệu huỳnh quang giữa DNA mẫu cần phân tích và DNA đối chứng. Trong quy trình này, hai nguồn DNA được cắt nhỏ, đánh dấu bằng hai màu huỳnh quang khác nhau, thường là Cy3 và Cy5, sau đó trộn và lai cạnh tranh trên vi mảng chứa nhiều đoạn dò đặc hiệu phân bố dọc bộ gen. Tỷ lệ tín hiệu tại từng vị trí phản ánh sự thay đổi số lượng bản sao: tín hiệu tăng gợi ý lặp đoạn hoặc thừa vật chất di truyền, còn tín hiệu giảm gợi ý mất đoạn. Trong chẩn đoán trước sinh, aCGH thường được thực hiện trên DNA tách từ tế bào ối hoặc gai nhau. So với karyotype truyền thống, phương pháp này có độ phân giải cao hơn, nhờ đó có thể phát hiện các vi mất đoạn/vi lặp đoạn kích thước nhỏ mà quan sát nhiễm sắc thể dưới kính hiển vi dễ bỏ sót. Ngoài ra, aCGH không phát hiện tốt các bất thường cân bằng như chuyển đoạn cân bằng hoặc đảo đoạn cân bằng, và khả năng nhận diện thể khảm mức thấp còn hạn chế [90].

1.6. CÁC KỸ THUẬT CHẨN ĐOÁN ĐỐI VỚI NIPT

1.6.1. Nuôi cấy nhiễm sắc thể đồ dịch ối (Karyotype)

Nuôi cấy nhiễm sắc thể đồ (karyotyping) là phương pháp chẩn đoán tế bào di truyền kinh điển. Tế bào thai, thường lấy từ dịch ối hoặc gai nhau, được nuôi cấy trong môi trường thích hợp để tăng số lượng tế bào. Sau đó, mẫu được xử lý bằng hóa chất ức chế thoi phân bào như colchicine/colcemid nhằm giữ tế bào ở kỳ giữa, thời điểm nhiễm sắc thể co xoắn rõ nhất. Nhiễm sắc thể được nhuộm băng, phổ biến là G-banding, rồi sắp xếp thành từng cặp để đánh giá số lượng và cấu trúc. Trong quản lý thai kỳ, karyotype thường được dùng để xác nhận khi NIPT cho kết quả nguy cơ cao, đặc biệt với các bất thường số lượng như T21, T18, T13, Turner hoặc các bất thường cấu trúc lớn. Ưu điểm của phương pháp là quan sát được toàn bộ bộ nhiễm sắc thể ở cấp độ tế bào và có thể phát hiện chuyển đoạn cân bằng, đảo đoạn hoặc thể khảm ở mức độ nhất định. Hạn chế chính là thời gian trả kết quả dài do cần nuôi cấy và độ phân giải thấp hơn so với aCGH hoặc CNV-seq [4, 5, 20].

1.6.2. Lai huỳnh quang tại chỗ (FISH)

Lai huỳnh quang tại chỗ (Fluorescence In Situ Hybridization - FISH) dựa trên sự bắt cặp bổ sung giữa đoạn dò DNA gắn huỳnh quang và trình tự đích trên nhiễm sắc thể. Mẫu thường là tế bào ối hoặc gai nhau, có thể phân tích trực tiếp trên nhân tế bào kỳ trung gian mà không cần chờ nuôi cấy dài ngày. Sau khi lai và rửa bỏ tín hiệu không đặc hiệu, số lượng đốm huỳnh quang quan sát dưới kính hiển vi sẽ phản ánh số bản sao của vùng hoặc nhiễm sắc thể được khảo sát. Trong chẩn đoán trước sinh sau NIPT, FISH có giá trị như xét nghiệm nhanh, thường cho kết quả trong 24-48 giờ, giúp xác nhận sớm các lệch bội phổ biến như trisomy 21, 18, 13 và bất thường nhiễm sắc thể giới tính X/Y. Kỹ thuật này cũng có thể được dùng cho một số hội chứng vi mất đoạn khi có đầu dò phù hợp. FISH chỉ đánh giá các vùng được thiết kế đầu dò, vì vậy không thay thế hoàn toàn karyotype, aCGH hoặc CNV-seq khi cần khảo sát toàn bộ bộ gen [91, 92].

1.6.3. Giải trình tự biến thể số lượng bản sao (CNV-seq)

Giải trình tự biến thể số lượng bản sao (CNV-seq) là phương pháp chẩn đoán dựa trên giải trình tự thế hệ mới ở độ phủ thấp (low-pass WGS). DNA từ mẫu tế bào

thai, thường là dịch ối hoặc gai nhau, được giải trình tự ngẫu nhiên thành hàng triệu đoạn đọc ngắn. Các đoạn đọc này được ánh xạ lên bộ gen tham chiếu, sau đó bộ gen được chia thành các cửa sổ nhỏ để đếm số lượng reads. Nếu số reads tại một vùng tăng hoặc giảm rõ so với nền tham chiếu, có thể suy ra vùng đó bị lặp đoạn, mất đoạn hoặc lệch bội. Trong chẩn đoán trước sinh, CNV-seq ngày càng được sử dụng như một lựa chọn thay thế hoặc bổ sung cho aCGH nhờ quy trình không cần lai trên vi mảng, thông lượng cao và chi phí ngày càng hợp lý. Phương pháp này phát hiện tốt các lệch bội toàn bộ nhiễm sắc thể và nhiều vi mất đoạn/vi lặp đoạn có kích thước nhỏ, thường từ khoảng 100 kb trở lên. Ngoài ra, CNV-seq không phát hiện được bất thường cân bằng và có thể bỏ sót thể khảm mức rất thấp (<10-20%) [93].

1.6.4. Định lượng huỳnh quang PCR (QF-PCR)

QF-PCR (Quantitative Fluorescence PCR) là kỹ thuật chẩn đoán di truyền phân tử dùng để phát hiện nhanh một số lệch bội nhiễm sắc thể thường gặp. Phương pháp này khuếch đại đồng thời nhiều marker đa hình, chủ yếu là các vùng lặp lại ngắn (STR) trên các nhiễm sắc thể đích như 13, 18, 21, X và Y. Các cặp mồi được gắn huỳnh quang, sản phẩm PCR được phân tách bằng điện di mao quản và phần mềm sẽ phân tích chiều cao hoặc diện tích peak của từng allele. Ở người bình thường, hai allele tại một marker dị hợp tử thường có tỷ lệ tín hiệu xấp xỉ 1:1. Trong trường hợp tam nhiễm, có thể gặp ba allele với tỷ lệ 1:1:1, hai allele với tỷ lệ khoảng 2:1 hoặc 1:2. QF-PCR thường được dùng như xét nghiệm phát hiện lệch bội nhanh trên DNA từ dịch ối, không cần nuôi cấy tế bào, có thể hỗ trợ tư vấn trong thời gian chờ kết quả karyotype hoặc các xét nghiệm toàn bộ hệ gen. Hạn chế của phương pháp là chỉ đánh giá các nhiễm sắc thể/marker được thiết kế, không phát hiện được bất thường cấu trúc ngoài vùng khảo sát hoặc các bất thường hiếm trên toàn bộ bộ gen [94, 95].

1.7. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU TRONG NƯỚC VÀ TRÊN THẾ GIỚI

1.7.1. Nghiên cứu trong nước

Nghiên cứu của Dương Chí Thành và cộng sự (2021) trên 7.015 thai phụ tại Việt Nam ghi nhận tỷ lệ NIPT nguy cơ cao đối với các lệch bội thường gặp lần lượt là trisomy 21: 1,28% (90/7015), trisomy 18: 0,24% (17/7015) và trisomy 13: 0,20%

(14/7015). Trong các nhóm này, T21 chiếm tỷ lệ cao nhất và có xu hướng tăng theo tuổi mẹ. Khi áp dụng NIPT cho nhóm thai phụ đã có kết quả sàng lọc huyết thanh nguy cơ cao, số trường hợp NIPT dương tính chỉ chiếm một tỷ lệ nhỏ so với số cao nguy cơ cao ban đầu. Kết quả này cho thấy NIPT có thể giúp giảm số thai phụ phải thực hiện chẩn đoán xâm lấn không cần thiết, đồng thời vẫn hỗ trợ chọn lọc những trường hợp cần tư vấn và xác nhận bằng chọc ối hoặc xét nghiệm chẩn đoán khác [96].

Nghiên cứu của Phan Hoàng Cúc và cộng sự (2024) trên 6.104 thai phụ thai đơn từ 9 tuần trở lên đánh giá NIPT mở rộng trên nhiều nhiễm sắc thể. Tỷ lệ nguy cơ cao được ghi nhận là 1,95% (119/6104), bao gồm T21, T18, T13, các bất thường NST giới tính (45,X; 47,XXX; 47,XXY; 47,XYY) và một nhóm lệch bội NST thường hiếm. Khi đối chiếu bằng chẩn đoán trước sinh ở các trường hợp nguy cơ cao, nghiên cứu cho thấy độ nhạy và NPV rất cao, độ đặc hiệu trên 99,8%. PPV khác nhau giữa các nhóm: cao nhất ở T21, trung bình ở T13/T18, thấp hơn ở nhóm NST giới tính và rất thấp ở nhóm lệch bội hiếm. Kết quả này nhấn mạnh rằng NIPT có giá trị lớn trong sàng lọc các lệch bội thường gặp, nhưng những tín hiệu hiếm hoặc không điển hình cần được tư vấn kỹ và xác nhận bằng xét nghiệm xâm lấn trước khi đưa ra kết luận lâm sàng [97].

1.7.2. Nghiên cứu trên thế giới

Nghiên cứu hồi cứu của Wang và cộng sự (2025, Scientific Reports) đánh giá vai trò của việc tăng độ sâu giải trình tự trên nền tảng bán dẫn trong sàng lọc lệch bội nhiễm sắc thể bằng NIPT. Nghiên cứu thu nhận 59.800 thai đơn nguy cơ cao tại Bệnh viện Phụ sản - Nhi Quảng Đông trong giai đoạn 01/2015-12/2020, gồm nhóm NIPT chuẩn (0,15×, khoảng 3 triệu reads; n = 48.018) và nhóm NIPT mở rộng (0,4×, khoảng 8 triệu reads; n = 11.782). Các trường hợp dương tính được tư vấn làm karyotype hoặc CMA để xác nhận và được theo dõi kết cục thai kỳ. Kết quả cho thấy tỷ lệ dương tính của NIPT mở rộng cao hơn NIPT thường quy (1,78% so với 1,42%; p = 0,0037). PPV cũng tăng khi độ sâu giải trình tự tăng: ở nhóm NIPT chuẩn, PPV lần lượt là T21 84,80%, T18 69,23%, T13 25,00% và các lệch bội NST thường khác

4,55%; ở nhóm NIPT mở rộng, các tỷ lệ tương ứng là T21 86,96%, T18 80,00%, T13 35,00% và lệch bội khác 8,77%. Mức cải thiện rõ nhất được ghi nhận ở T18. Đối với bất thường NST giới tính, PPV xấp xỉ 50% ở cả hai nhóm. Nghiên cứu cũng ghi nhận một trường hợp âm tính giả T18, sau đó được phát hiện nhờ siêu âm bất thường và chẩn đoán trước sinh. Tăng độ sâu giải trình tự có thể cải thiện PPV, nhất là với trisomy 18, nhưng hiệu quả vẫn còn hạn chế đối với nhóm lệch bội hiếm [4].

Nghiên cứu hồi cứu của Deng và cộng sự (2023) phân tích 153.306 thai phụ đơn thai thực hiện NIPS tại West China Second Hospital trong giai đoạn 05/2015-06/2020, nhằm làm rõ các yếu tố mẹ và thai ảnh hưởng đến fetal fraction (FF). Các biến được thu thập gồm tuổi thai, tuổi mẹ, BMI, FF và z-score của NST 21, 18, 13; FF được ước tính dựa trên NST Y hoặc phân bố chiều dài mảnh cfDNA, với ngưỡng FF tối thiểu 4%. Kết quả cho thấy FF trung vị là 11,62%, tăng theo tuổi thai và giảm khi tuổi mẹ, BMI tăng. Ở các ca thật dương tính, z-score của NST 21 và 18 tương quan thuận với FF, trong khi không thấy tương quan rõ ở T13. Nghiên cứu nhấn mạnh cần xem xét tuổi thai, BMI và tuổi mẹ trong kiểm soát chất lượng trước xét nghiệm và diễn giải kết quả sau xét nghiệm [9].

PHẦN II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. ĐỐI TƯỢNG, ĐỊA ĐIỂM VÀ THỜI GIAN NGHIÊN CỨU

2.1.1. Đối tượng

Nghiên cứu hồi cứu được thực hiện dựa trên kết quả xét nghiệm NIPT của tổng cộng 9.708 phụ nữ khỏe mạnh mang thai đơn, độ tuổi 18–50 được lấy máu ngoại vi từ tuần thai thứ 9 sau đó xét nghiệm NIPT tại Viện Mô phôi lâm sàng Quân đội.

2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ

Nghiên cứu chỉ tập trung vào phụ nữ mang thai đơn. Loại trừ các trường hợp mang thai do thụ tinh trong ống nghiệm (IVF), đa thai (song thai, tam thai,...) hoặc thai lưu trong đa thai, phụ nữ có bệnh lý ác tính liên quan đến ung thư hoặc tiền sử ghép tạng.

2.1.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Từ tháng 4 năm 2023 đến tháng 11 năm 2024 tại Lab Di truyền y học, Bộ Môn Sinh học–Di truyền y học, Học Viện Quân Y. Tất cả phụ nữ mang thai đều đồng ý tham gia nghiên cứu bằng văn bản sau khi được cung cấp đầy đủ thông tin về xét nghiệm NIPT

2.1.4. Thời gian thực hiện đồ án

Từ tháng 8 năm 2024 đến tháng 4 năm 2026

2.2. VẬT LIỆU NGHIÊN CỨU

2.2.1. Vật tư, thiết bị dùng trong nghiên cứu

Bảng 2. Vật tư, thiết bị dùng trong nghiên cứu	
Thông tin	Hãng/Nước sản xuất
Pipet 2,5; 10; 100; 200; 1000	Eppendorf - Đức
Ống PCR 0,2mL; 1,5mL; 2,0mL	Biologix – Mỹ
Đầu tip pipet 10; 20; 1000	Biologix – Mỹ
Giá nam châm, rack, khay đá lạnh	Trung Quốc
Máy ly tâm ngắn	Trung Quốc

Máy ly tâm tốc độ cao	Eppendorf - Đức
Máy vortex	Trung Quốc
Ống Cell-Free DNA BCT (streck)	Mỹ
Máy nước sạch 18 MΩ	Trung Quốc
Box an toàn sinh học cấp II	Trung Quốc
Máy ủ nhiệt	Eppendorf - Đức
Máy PCR	Eppendorf - Đức
Găng tay, khẩu trang	–
Máy đo nồng độ DNA	–
Máy OneTouch 2 (emPCR)	Thermo Fisher Scientific – Mỹ
Hệ thống ES (Enrichment System)	Thermo Fisher Scientific – Mỹ
Máy giải trình tự bán dẫn BioelectronSeq 4000	CapitalBio Genomics - Trung Quốc
Máy ly tâm chip Ion PI	Thermo Fisher Scientific – Mỹ
Máy chủ phân tích	Thermo Fisher Scientific – Mỹ

2.2.2. Hóa chất

Bảng 3. Hóa chất dùng trong nghiên cứu	
Thông tin	Hãng/Nước sản xuất
Kit tách chiết Nucleic Acid Extraction & Purification Kit	Life Technologies
Kit xây dựng thư viện Fetal Aneuploidies (Trisomy 21, 18, 13) Detection Kit	Life Technologies
kit chuẩn bị template cho giải trình tự	Life Technologies
Kit chạy giải trình tự Universal Kit for Sequencing Reaction	Life Technologies

Hóa chất đo nồng độ DNA Qubit dsDNA	Mỹ
Ethanol & Isopropanol	Mỹ
Nước nuclease-free	Mỹ
NaOH 10 M	Mỹ
Chip Ion PI	Thermo Fisher Scientific – Mỹ

2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.3.1. Phương pháp tách chiết cfDNA

Chuẩn bị hóa chất: rã đông Protease K, bật máy ủ nhiệt ở 40°C và bổ sung ethanol tuyệt đối vào dung dịch Detergent 2 theo hướng dẫn của bộ kit.

Sau khi thu thập, mẫu máu được ly tâm lạnh ở 4°C với lực ly tâm $1.600 \times g$ trong 10 phút. Phần huyết tương phía trên được chuyển sang ống Eppendorf 2,0 mL đã đánh mã riêng, sau đó ly tâm lần hai ở $16.000 \times g$ trong 10 phút tại 4°C để loại bỏ tế bào còn sót. Huyết tương sau ly tâm được hút cẩn thận, tránh chạm vào lớp cặn tế bào, rồi tiến hành tách chiết cfDNA bằng bộ kit nucleic acid extraction purification kit theo nguyên lý hạt từ.

- Bước 1: Lần lượt cho 20 μ L Protease K, 30 μ L BeadsG, 400 μ L huyết tương và 500 μ L dung dịch ly giải MLK vào cùng một ống 2,0 mL. Trộn đều, ủ lắ ở 40°C trong 10 phút, sau đó ly tâm nhanh và đặt ống lên giá nam châm trong 3 phút.
- Bước 2: Hút bỏ dịch nổi, thêm 500 μ L dung dịch rửa Detergent 1, vortex trong 5 giây, ly tâm ngắn rồi đặt ống trở lại giá nam châm.
- Bước 3: Sau 1 phút, hút bỏ dịch nổi, thêm 500 μ L dung dịch rửa Detergent 2, vortex trong 5 giây, ly tâm ngắn rồi đặt ống lên giá nam châm.
- Bước 4: Lặp lại bước rửa bằng Detergent 2: sau 1 phút, hút bỏ dịch nổi, thêm 500 μ L Detergent 2, vortex trong 5 giây, ly tâm ngắn rồi đặt ống lên giá nam châm.
- Bước 5: Hút bỏ dịch nổi, ly tâm ngắn và hút sạch phần dịch còn sót lại. Mở nắp ống và để ở nhiệt độ phòng khoảng 5 phút để ethanol bay hơi hoàn toàn.

- Bước 6: Thêm 45 μL dung dịch AE vào ống, ủ ở 40°C trong 5 phút, sau đó ly tâm ngắn.

- Bước 7: Đặt ống lên giá nam châm trong 1 phút, sau đó hút phần dịch nổi chứa cfDNA sang ống PCR 0,2 mL. Mẫu được bảo quản ở -30 đến -10°C nếu sử dụng trong thời gian ngắn, hoặc $\leq -70^{\circ}\text{C}$ nếu lưu trữ dài hạn.

2.3.2. Phương pháp xây dựng thư viện

- Trước khi xây dựng thư viện, các hóa chất cần được rã đông và đặt trên khay lạnh, gồm: End Repair Buffer, End Repair Enzyme, Ligase Buffer, DNA Ligase Enzyme, PCR Buffer, Primer Mix, Adapter, Barcode, Beads1, Beads2, TE buffer và mẫu cfDNA.

Bước 1: Pha phản ứng end-repair

Bảng 4. Hóa chất chạy phản ứng End-repair	
Thành phần	Thể tích (μL)
DNA cfDNA	43,5
End Repair Buffer	5
End Repair Enzyme	1,5
Tổng	50
Spin rồi chạy máy PCR ở 25°C trong 30 phút	

Bước 2: Tinh sạch sau phản ứng end-repair. Trước hết, lắc đều Beads1 khoảng 1 phút, thêm 65 μL Beads1 vào ống phản ứng end-repair (tổng thể tích 115 μL), vortex khoảng 3 giây và để yên 5 phút. Ly tâm nhanh, đặt ống lên giá nam châm trong 3 phút để hạt từ tách sang một bên. Chuẩn bị ống 1,5 mL mới đã đánh số và cho sẵn 100 μL Beads2, sau đó chuyển phần dịch nổi từ ống Beads1 sang ống Beads2, tránh hút theo hạt từ. Vortex 3 giây, để yên 5 phút, ly tâm nhanh, đặt lên giá nam châm 3 phút rồi hút bỏ dịch nổi. Tiếp theo, rửa hạt từ hai lần bằng ethanol 75%; mỗi lần thêm 500 μL ethanol 75%, xoay nhẹ giá nam châm, để khoảng 5 giây rồi hút bỏ dịch rửa. Sau khi rửa, hút sạch ethanol còn sót, mở nắp ống và để khô ở nhiệt độ phòng đến khi bề mặt hạt bắt đầu nứt nhẹ, nhưng không để quá khô. Thêm 28 μL TE buffer,

vortex kỹ để hạt phân tán đều và để yên 5 phút. Cuối cùng, đặt ống lên giá nam châm cho hạt tách sang một bên, hút toàn bộ dịch nổi sang ống mới; phần dịch này là DNA đã tinh sạch, dùng cho bước gắn adapter.

Bước 3: Gắn adapter + barcode

Bảng 5. Hóa chất chạy phản ứng gắn adapter + barcode	
Thành phần	Thể tích (μL)
DNA sau tinh sạch ở bước 2	28
Nuclease-free water	13
Ligase Buffer	5
DNA Ligase Enzyme	1
Adapter	1,5
Barcode (A01–A48)	1,5
Tổng	50
Spin rồi chạy máy PCR ở 25°C trong 30 phút	

Bước 4: Tinh sạch sau phản ứng ligation. Thêm 75 μL Beads2 vào ống chứa sản phẩm ligation, vortex khoảng 3 giây và để yên 5 phút để DNA bám lên hạt. Ly tâm nhanh, đặt ống lên giá nam châm trong 3 phút, sau đó hút bỏ dịch nổi. Rửa hạt từ bằng ethanol 75% hai lần liên tiếp; mỗi lần thêm 500 μL ethanol 75%, xoay nhẹ giá nam châm, để vài giây rồi hút bỏ dịch rửa. Sau khi rửa, hút sạch ethanol còn sót và mở nắp ống ở nhiệt độ phòng đến khi bề mặt hạt bắt đầu nứt nhẹ. Thêm 18,2 μL TE buffer, vortex kỹ cho hạt phân tán đều và để yên 5 phút. Cuối cùng, đặt ống lên giá nam châm để hạt tách sang một bên, rồi hút toàn bộ 18,2 μL dịch nổi sang ống PCR 0,2 mL.

Bước 5: Khuếch đại thư viện

Bảng 6. Hóa chất chạy bước khuếch đại thư viện	
Thành phần	Thể tích (μL)
DNA gắn adapter ở bước 4	18,2

PCR Buffer	20	
Primer Mix	1,8	
Tổng	40	
Trộn đều rồi chạy trên máy PCR với chu trình		
Nhiệt độ °C	Thời gian	Chu kỳ
75	10 phút	1
95	2 phút	1
98	20 giây	13
65	30 giây	
72	30 giây	
72	2 phút	1
4	Giữ đến khi bỏ ra khỏi máy	1

Bước 6: Tinh sạch sau PCR thư viện. Chuyển toàn bộ 40 μ L sản phẩm PCR sang ống chứa 45 μ L Beads2, vortex khoảng 3 giây và để yên 5 phút để DNA bám lên hạt. Ly tâm nhanh, đặt ống lên giá nam châm trong 3 phút rồi hút bỏ dịch nổi. Tiếp theo, rửa hạt từ hai lần bằng ethanol 75%; mỗi lần thêm 500 μ L ethanol 75%, xoay nhẹ giá nam châm, để khoảng 5 giây rồi loại bỏ dịch rửa. Sau rửa, hút sạch ethanol còn sót và mở nắp ống ở nhiệt độ phòng đến khi bề mặt hạt bắt đầu nứt nhẹ, nhưng không để quá khô. Cuối cùng, thêm 50 μ L TE buffer, vortex kỹ, để yên 5 phút, đặt ống lên giá nam châm và hút toàn bộ dịch nổi chứa thư viện DNA tinh sạch sang ống mới để chuẩn bị cho bước tiếp theo.

2.3.3. Quy trình tạo ISP trên máy OneTouch2

Quá trình tạo hạt Ion Sphere Particles (ISP) được thực hiện bằng bộ Ion PI™ Hi-Q™ OT2 200 Kit trên máy OneTouch2 theo cơ chế PCR nhũ tương (emulsion PCR, emPCR). Hỗn hợp phản ứng gồm emPCR buffer, emPCR enzyme mix, sphere particles, nước không chứa nuclease và thư viện DNA đã được định lượng, với thể tích pha theo hướng dẫn của hãng. Hỗn hợp được nạp vào Reaction Filter, bổ sung Reaction Oil để tạo nhũ tương và đưa lên máy OneTouch2. Máy thực hiện emPCR

tự động trong khoảng 5 giờ, tạo các vi giọt nhũ tương, trong đó mỗi hạt ISP mang một phân tử DNA khuôn và được khuếch đại thành nhiều bản sao. Sau khi chạy xong, dung dịch được thu hồi qua OT Recovery Tubes, tách nhũ tương và rửa bằng Recovery Solution. Các ISP sau emPCR được thu lại, rửa nhiều lần, ly tâm để loại dầu dư và chuẩn bị cho bước làm giàu.

2.3.4. Quy trình làm giàu ISP

Dung dịch ISP sau emPCR được đưa vào hệ thống ES cùng với Wash Solution, Beads Capture Solution và dung dịch kiềm 1M NaOH để tách chọn các ISP dương tính, tức các ISP có DNA gắn trên bề mặt. Hạt từ Streptavidin C1 Beads được dùng để bắt giữ các ISP mang adapter biotin hóa. Hệ thống ES tự động rửa, loại bỏ ISP âm tính và thu lại dung dịch chứa ISP dương tính đã làm sạch. Sau bước làm giàu, mẫu ISP được rửa bằng nước không chứa nuclease, chuẩn hóa thể tích và chuẩn bị cho bước gắn môi giải trình tự.

2.3.5. Quy trình giải trình tự bán dẫn trên hệ thống Ion Proton

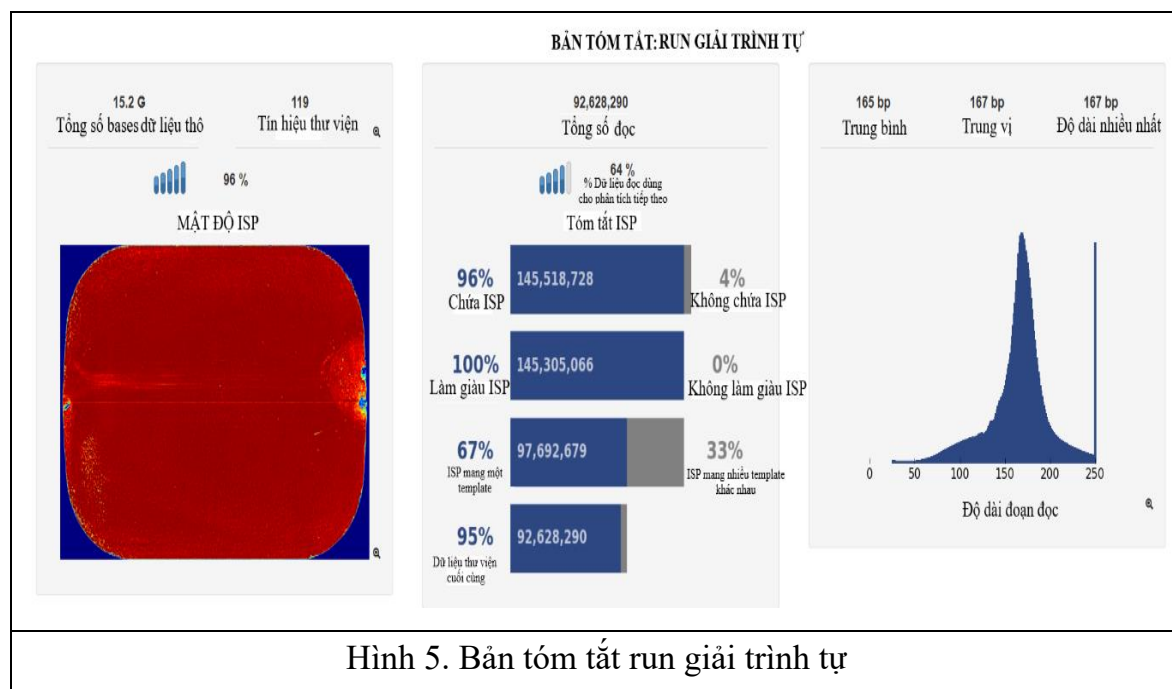
ISP sau làm giàu được trộn với sequencing primer, annealing buffer và sequencing polymerase, sau đó thực hiện bước annealing trên máy PCR theo chương trình 95°C trong 2 phút, 37°C trong 2 phút và giữ ở 20°C. Hỗn hợp được nạp lên chip Ion PI™; chip được ly tâm để loại bọt khí, rửa bằng annealing buffer và rinse solution, sau đó bổ sung enzyme reaction. Chip chứa ISP được đặt vào máy giải trình tự BioelectronSeq® 4000. Máy thực hiện giải trình tự bán dẫn, trong đó mỗi nucleotide được DNA polymerase gắn vào sợi DNA sẽ tạo ra thay đổi pH cục bộ và được cảm biến trên chip ghi nhận theo thời gian thực. Quá trình chạy chip kéo dài khoảng 2,5 giờ. Dữ liệu sau chạy được phần mềm của hãng xử lý để thu số lượng unique reads, tính %chrN và Z-score, từ đó đánh giá nguy cơ lệch bội T13, T18 và T21.

2.3.6. Phần mềm chạy và phân tích kết quả

2.3.6.1. Phần mềm chạy giải trình tự

Sau khi mẫu được đưa lên hệ thống giải trình tự, phần mềm hiển thị các thông số dùng để theo dõi và đánh giá chất lượng run. Các thông số chính gồm tổng số base tạo ra, cường độ tín hiệu ban đầu của thư viện, tỷ lệ ISP được nạp lên chip, tỷ lệ reads

sử dụng được, tỷ lệ giếng có hạt và giếng trống, tỷ lệ hạt có hoặc không có DNA khuôn, tỷ lệ hạt đơn dòng và đa dòng, dữ liệu thư viện cuối cùng được giữ lại cho phân tích và phân bố độ dài đoạn đọc. Những chỉ số này giúp đánh giá chất lượng lần chạy trước khi phân tích kết quả NIPT.



2.3.6.2. Phần mềm phân tích

Các mẫu có số lượng reads đạt yêu cầu $> 3,5$ triệu reads/mẫu được đưa vào phân tích, nếu không đủ dữ liệu thì giải trình tự lại. Thư viện có nồng độ < 1 nmol/L cần được làm lại. Kết quả lệch bội NST 21/18/13 được thực hiện bằng phương pháp Z-score dựa trên tỷ lệ đại diện reads theo nhiễm sắc thể. Sau khi căn chỉnh reads lên bộ gen tham chiếu và lọc lấy unique reads, tỷ lệ đại diện của từng nhiễm sắc thể được tính và chuẩn hóa theo thuật toán của phần mềm phân tích.

Bảng 7. Tỷ lệ đoạn đọc của nhiễm sắc thể
$\%chrN = (UniqueReads_chrN / UniqueReads_autosomes) \times 100\%$ ($N = 1-22, X, Y$).
$\%chrN$: Tỷ lệ đoạn đọc của nhiễm sắc thể N
UniqueReads_chrN: Số đoạn đọc được căn chỉnh vào nhiễm sắc thể N
UniqueReads_autosomes: Tổng số đoạn đọc được căn chỉnh vào các nhiễm sắc thể

thường

N: Nhiễm sắc thể số 1–22, X hoặc Y

Z-score được tính bằng cách so sánh tỷ lệ reads chuẩn hóa của từng nhiễm sắc thể trong mẫu với trung bình và độ lệch chuẩn của quần thể tham chiếu bình thường:

Bảng 8. Cách tính giá trị Z-score		
Z-score=	%chrN mẫu—giá trị trung bình của %chrN tham chiếu	(N=1, 2, 3...22, X, Y)
	Độ lệch chuẩn của %chrN tham chiếu	

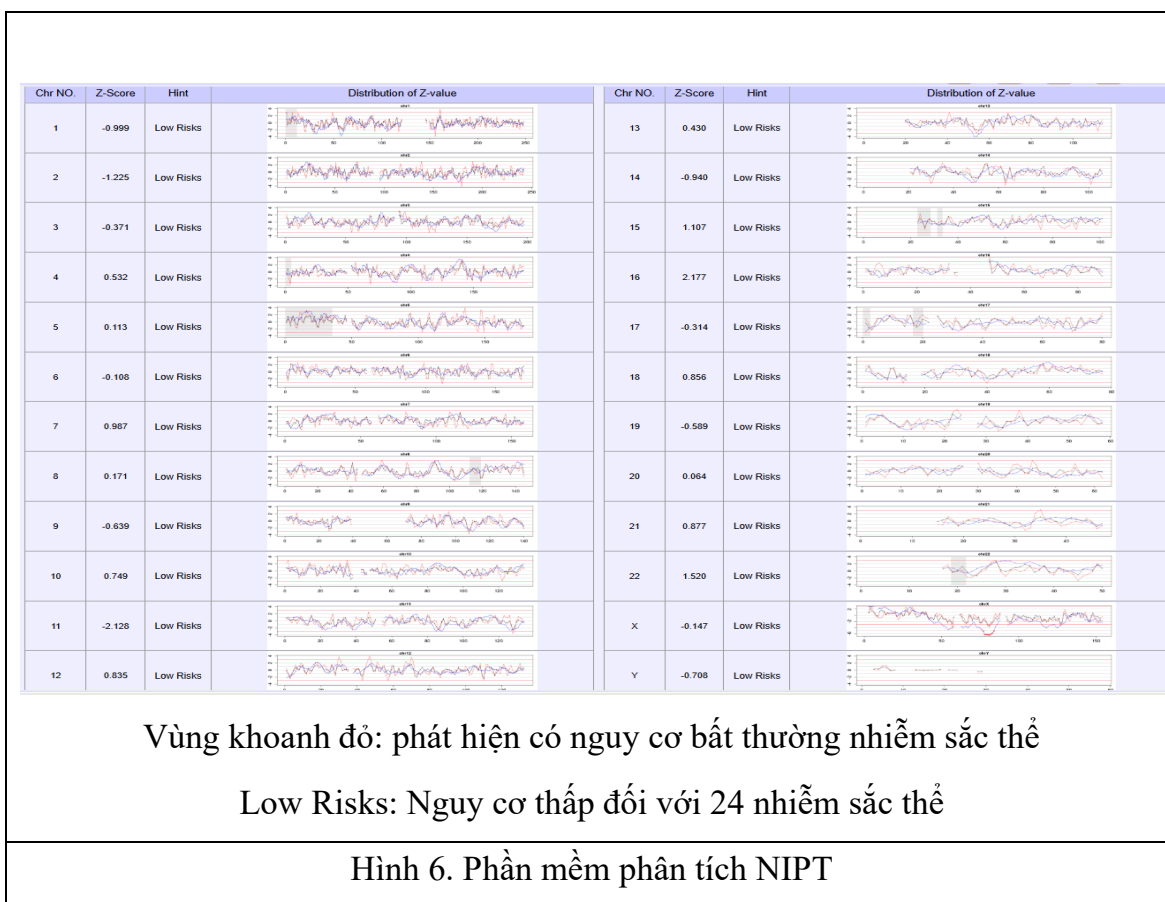
$Z = (\%chrN_{mẫu} - \text{mean}(\%chrN_{tham\ chiếu})) / SD(\%chrN_{tham\ chiếu})$.

Mẫu được kết luận âm tính khi $Z \leq 1,96$, vùng xám khi $1,96 < Z < 3$ (khuyến nghị lấy lại mẫu nếu FF thấp $< 4\%$) và dương tính khi $Z \geq 3$.

Tỷ lệ fetal fraction (FF) được ước tính bằng mô hình hồi quy tuyến tính, kết hợp tỷ lệ tín hiệu của nhiễm sắc thể Y trong trường hợp thai nam và mô hình dựa trên phân bố chiều dài các mảnh cell-free DNA. Theo nguyên lý này, cfDNA có nguồn gốc thai thường có đỉnh phân bố khoảng 140–150 bp, trong khi cfDNA có nguồn gốc mẹ thường có đỉnh khoảng 165–170 bp

15.2 G Total Bases		119 Key Signal	92,626,290 Total Reads	64% Usable Reads	165 Mean	168 Median	168 Mode	Quality Control	Value	Reference Ranges
			96% Loading 100% Illumination 67% Total 95% Read Library 141,518,718 4% Empty Pairs 141,505,044 0% No Reads 87,682,679 33% Paired 83,416,296 4% Not Sequenced 1% Mapping Error 4% Low Quality		ISP Loading Polyclonal Low Quality Total Reads(M) QC-Score	97.1% 32.8% 4.5% 92.6 95	>75% <35% <10% >75			

STT	Mã mẫu	Tên	Tuổi	Tuần thai	GC%	fetal fraction(%)	Useable Reads	T21	T18	T13	Other	Mar
1	NH202428		29	10	42.113%	11.463%	5,391,494	0.877	0.856	0.430	0	95
2	NH20241		23	13	42.208%	20.130%	3,015,180	0.885	-0.155	0.537	0	80
3	NH202454		29	9	42.124%	12.754%	3,162,109	1.017	1.193	-1.139	0	80
4	NH2024K		34	10	41.850%	15.119%	3,020,967	0.117	0.218	0.530	0	80
5	NH202454		27	10	42.160%	23.172%	3,361,232	2.433	1.437	-0.500	0	80
6	NH202454		38	12	42.237%	20.448%	3,742,985	-1.184	-0.005	-0.126	0	85
7	NH202454		32	11	41.933%	13.889%	3,527,310	-0.413	0.524	0.593	0	85
8	NH202428		34	10	41.534%	10.760%	3,078,123	1.790	-0.764	13.929	0	80
9	NH202428		34	11	41.589%	16.348%	3,276,895	-0.092	-0.597	0.117	0	80
10	NH202428		30	10	40.891%	10.300%	3,273,347	-0.332	-0.879	-0.071	0	80
11	NH202428		28	9	41.304%	8.195%	3,104,973	1.047	-0.501	2.469	0	80
12	NH202428		28	12	41.379%	20.030%	5,311,633	0.481	0.037	0.770	0	95



2.3.7. Theo dõi và chẩn đoán trước sinh xâm lấn

Tất cả thai phụ có kết quả NIPT nguy cơ thấp được tiếp tục theo dõi bằng siêu âm trong thai kỳ cho đến khi sinh; thông tin về kiểu hình sau sinh được thu thập từ bác sĩ lâm sàng. Với các trường hợp NIPT nguy cơ cao, thai phụ được tư vấn chẩn đoán trước sinh xâm lấn ở tuần thai 16–22. Trong nghiên cứu này, phân tích giá trị sàng lọc chỉ thực hiện cho nhóm T13/T18/T21 có dữ liệu xác nhận bằng CNV-seq (phụ lục 2). Các bất thường NST giới tính và bất thường NST hiếm gặp được mô tả theo kết quả sàng lọc, chưa đưa vào phân tích giá trị sàng lọc do chưa có dữ liệu xác nhận đầy đủ. Với các trường hợp bất thường hiếm gặp ngoài phạm vi xét nghiệm, thai phụ được tư vấn thực hiện xét nghiệm di truyền phù hợp.

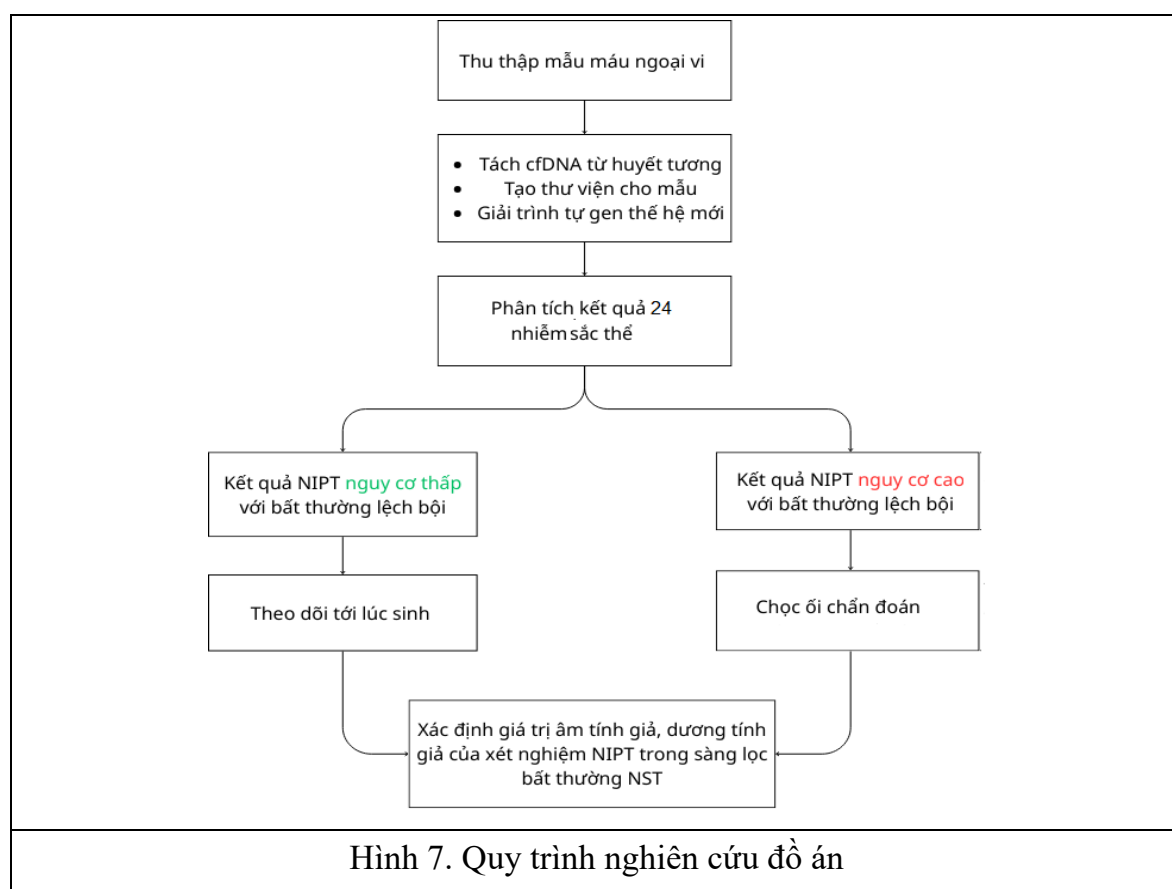
2.4. PHƯƠNG PHÁP THỐNG KÊ

Các biến số FF, tuổi thai, tuổi mẹ và BMI được nhập và làm sạch dữ liệu trên Microsoft Excel 2019, sau đó phân tích bằng Stata 16.0. Các chỉ số độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị tiên đoán dương (PPV), giá trị tiên đoán âm (NPV), tỷ lệ dương tính giả

và tỷ lệ âm tính giả được tính toán cho nhóm T13/T18/T21. Khoảng tin cậy 95% của các tỷ lệ được tính theo phương pháp Wilson score. Mỗi liên quan giữa FF với tuổi mẹ, tuổi thai và BMI được đánh giá bằng các phép kiểm thống kê phù hợp.

2.5. QUY TRÌNH THỰC HIỆN NGHIÊN CỨU

Quy trình nghiên cứu được thực hiện theo các bước chính. Trước hết, mẫu máu ngoại vi của thai phụ được thu thập và xử lý để tách huyết tương. Từ huyết tương, cfDNA tổng số được tách chiết, xây dựng thư viện và giải trình tự gen thế hệ mới. Dữ liệu giải trình tự sau đó được phân tích để tính tỷ lệ đoạn đọc và Z-score cho 24 nhiễm sắc thể (22 NST thường và NST giới tính), nhằm phát hiện nguy cơ bất thường lệch bội. Các trường hợp nguy cơ thấp được theo dõi trong thai kỳ cho đến khi sinh. Các trường hợp nguy cơ cao được tư vấn chọc ối để chẩn đoán xác định bằng CNV-seq. Cuối cùng, kết quả theo dõi sau sinh hoặc kết quả chẩn đoán xâm lấn được sử dụng để đánh giá độ chính xác, tỷ lệ âm tính giả, tỷ lệ dương tính giả và giá trị sàng lọc của xét nghiệm NIPT.



Hình 7. Quy trình nghiên cứu đồ án

2.6. ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU

- Nghiên cứu sử dụng số liệu hồi cứu; tất cả đối tượng đều được tư vấn về phương pháp sàng lọc NIPT và chẩn đoán trước sinh trước khi tham gia.
- Tất cả thông tin bệnh nhân đều được bảo mật, mã hóa, chỉ dùng cho mục đích nghiên cứu
- Toàn bộ quá trình nghiên cứu đều tuân thủ theo đúng chuyên môn và quy trình kỹ thuật
- Đề tài được thực hiện vì mục đích khoa học, không phục vụ lợi ích cá nhân hay mục đích thương mại.
- Nghiên cứu đã được phê duyệt thông qua Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học - Học viện Quân y; mã số phê duyệt (02/2026/CNchT-HĐĐĐ).

PHẦN III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. ĐẶC ĐIỂM CHUNG CỦA NHÓM NGHIÊN CỨU

3.1.1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

Trong tổng số 9.708 thai phụ được đưa vào nghiên cứu, tuổi mẹ trung bình là $29,9 \pm 5,1$ tuổi (18,0–50,0 tuổi). BMI trung bình là $21,25 \pm 2,04$ kg/m². Tuổi thai tại thời điểm lấy mẫu NIPT trung bình $10,9 \pm 1,2$ tuần, dao động từ 9 tuần 0 ngày đến 13 tuần 6 ngày.

Về chất lượng mẫu, có 9.342 trường hợp đạt tiêu chuẩn QC về fetal fraction (FF) và nhận được kết quả NIPT, trong khi 366 trường hợp không đạt QC được ghi nhận là không có kết quả. Trong số các mẫu có kết quả, 9.072 trường hợp được xếp nhóm bình thường và 270 trường hợp thuộc nhóm nguy cơ cao. Do 366 mẫu không đạt QC không thể phân loại là bình thường hay bất thường, các phân tích giá trị sàng lọc chỉ được thực hiện đầy đủ đối với nhóm trisomy 13, 18 và 21. Đối với các bất thường nhiễm sắc thể giới tính và bất thường nhiễm sắc thể hiếm gặp, nghiên cứu chủ yếu dừng ở mức mô tả tỷ lệ phát hiện nguy cơ cao trên NIPT.

Tuổi trung bình của thai phụ trong nghiên cứu là $29,9 \pm 5,1$ tuổi, gần với một số nghiên cứu ở châu Á. Dựa trên nghiên cứu hồi cứu của Deng và cộng sự trên 153.306 thai phụ thực hiện NIPT tại Trung Quốc ghi nhận tuổi mẹ trung vị là 29 tuổi, khoảng tứ phân vị 25–32 tuổi [9]. Ngược lại, một số nghiên cứu tại châu Âu ghi nhận tuổi mẹ trung bình cao hơn, lần lượt khoảng 34,4 và 35,4 tuổi [98, 99]. Sự khác biệt này có thể liên quan đến đặc điểm dân số, thời điểm sinh con và mô hình chăm sóc thai sản giữa các khu vực.

Tỷ lệ không có kết quả trong nghiên cứu hiện tại là khoảng 3,8%, vẫn nằm trong khoảng được ghi nhận ở nhiều nghiên cứu quốc tế. Trong nghiên cứu của Norton và cộng sự, khoảng 3,0% mẫu không có kết quả cfDNA, trong đó có nhóm FF <4%; tỷ lệ bất thường nhiễm sắc thể ở nhóm không có kết quả là 2,7%, cao hơn so với 0,4% trong toàn bộ nhóm có cùng đặc điểm, và riêng nhóm FF <4% có 9/192

trường hợp, tương ứng 4,7%, có bất thường nhiễm sắc thể [100]. FF thấp không chỉ là vấn đề kỹ thuật mà còn có thể gợi ý nguy cơ lâm sàng, do đó nhóm không có kết quả cần được tư vấn và theo dõi riêng, không xem như kết quả âm tính.

Trong nghiên cứu hiện tại, các trường hợp QC không đạt không được lấy mẫu lại mà được ghi nhận là không có kết quả, do dữ liệu phản ánh quy trình xét nghiệm thường quy với một lần thực hiện. Vì vậy, nghiên cứu chưa đánh giá được tỷ lệ có kết quả sau lấy mẫu lại. Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu cho thấy việc lấy máu lần hai có thể giúp cải thiện đáng kể tỷ lệ nhận được kết quả NIPT. White và cộng sự ghi nhận khoảng 53% thai phụ có kết quả sau lần lấy mẫu thứ hai khi lần đầu không đủ FF [101]. Một nghiên cứu tại Ireland trên 4.465 thai phụ cũng ghi nhận 4,6% trường hợp không có kết quả sau lần NIPT đầu do FF không đủ, nhưng hơn 70% trường hợp có thể nhận được kết quả sau lần xét nghiệm thứ hai hoặc thứ ba [102].

Bảng 9. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu					
Đặc điểm	Phân loại	Số ca (n)	Giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn	Giá trị nhỏ nhất	Giá trị lớn nhất
Tuổi mẹ (tuổi)		9708	$29,9 \pm 5,1$	18,0	50,0
BMI (kg/m ²)		9708	$21,25 \pm 2,04$	16,60	27,51
Tuổi thai (tuần)		9708	$10,9 \pm 1,2$	9,0	13,6
Nồng độ FF (%)	QC đạt	9342	$16,3 \pm 5,1$	4,2	42,5
	QC không đạt	366		—	
Kết quả NIPT	Bình thường	9072		—	
	Bất thường	270		—	
	Không có kết quả	366		—	

3.1.2. Kết quả nồng độ tách chiết và tạo thư viện mẫu

Nồng độ DNA sau tách chiết của 9.708 mẫu đạt trung bình $4,56 \pm 1,80$ ng/ μ L, dao động từ 2,12–8,40 ng/ μ L; khoảng tin cậy 95% của giá trị trung bình là 4,52–4,60

ng/μL. Nồng độ DNA thư viện trung bình đạt $3,13 \pm 1,25$ ng/μL, dao động từ 0,75–30,00 ng/μL; khoảng tin cậy 95% là 3,10–3,15 ng/μL.

Kết quả ở Bảng 10 cho thấy quy trình tách chiết cfDNA và xây dựng thư viện được triển khai ổn định trên số lượng mẫu lớn. Phần lớn các mẫu sau tách chiết đều có nồng độ DNA phù hợp để tiếp tục các bước xử lý tiếp theo theo quy trình của phòng xét nghiệm. Sau bước xây dựng thư viện, nồng độ DNA thư viện vẫn duy trì ở mức đáp ứng yêu cầu cho các công đoạn tạo ISP, làm giàu và giải trình tự. Điều này cho thấy chất lượng mẫu và tính ổn định của quy trình kỹ thuật tương đối tốt trong điều kiện xét nghiệm thường quy với số lượng mẫu lớn.

Bảng 10. Kết quả nồng độ tách chiết DNA tự do và nồng độ lập thư viện				
Thông tin nồng độ (ng/μL)	Số ca (n)	Giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn	Giá trị nhỏ nhất – lớn nhất	KTC 95%
DNA tách chiết	9708	$4,56 \pm 1,80$	2,12 – 8,40	4,52 – 4,60
DNA thư viện	9708	$3,13 \pm 1,25$	0,75 – 30,00	3,10 – 3,15

3.2. PHÂN TÍCH CÁC YẾU TỐ LIÊN QUAN VỚI DNA THAI TỰ DO

3.2.1. Kết quả nồng độ FF với nhóm tuổi mẹ

Kết quả nghiên cứu cho thấy fetal fraction (FF) có sự khác biệt nhẹ giữa các nhóm tuổi mẹ. Nhóm thai phụ 25–29 tuổi có FF cao nhất với giá trị trung bình $16,47 \pm 5,04\%$ và trung vị 16,1%, trong khi nhóm 40–50 tuổi có FF thấp nhất, lần lượt là $15,65 \pm 5,39\%$ và 15,1%. Kiểm định Kruskal–Wallis cho thấy sự khác biệt giữa các nhóm tuổi có ý nghĩa thống kê ($H = 17,47$; $p = 0,0016$). Từ sau 35 tuổi, FF có xu hướng giảm dần theo tuổi mẹ.

Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Deng và cộng sự trên 153.306 thai phụ đơn thai thực hiện NIPS tại Trung Quốc. Nghiên cứu ghi nhận FF giảm dần theo tuổi mẹ, từ trung vị 12,04% ở nhóm <25 tuổi xuống còn 10,65% ở nhóm ≥ 40 tuổi; xu hướng này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$ [9]. Một số giả thuyết cho rằng tuổi mẹ cao có thể liên quan đến thay đổi chức năng nhau thai hoặc tăng lượng cfDNA nguồn gốc mẹ trong tuần hoàn, từ đó làm giảm tỷ lệ cfDNA nguồn gốc thai.

Tuy nhiên, không phải tất cả các nghiên cứu đều ghi nhận mối liên quan này. Hestand và cộng sự năm 2019, trong nghiên cứu trên 14.379 trường hợp NIPT, cho thấy tuổi mẹ không ảnh hưởng rõ rệt đến FF, trong khi BMI và cân nặng mẹ có mối liên quan nghịch với chỉ số này [103]. Sự khác biệt có thể đến từ đặc điểm quần thể, cỡ mẫu, phân bố BMI, tuổi thai tại thời điểm lấy mẫu và phương pháp ước tính fetal fraction của từng hệ thống xét nghiệm. Mặt khác, dù p có ý nghĩa thống kê, mức chênh lệch tuyệt đối giữa các nhóm tuổi trong nghiên cứu hiện tại không lớn. Ảnh hưởng của tuổi mẹ đến FF có thể không mạnh bằng các yếu tố khác như BMI, cân nặng mẹ hoặc tuổi thai.

Bảng 11. So sánh FF giữa các nhóm tuổi mẹ			
Nhóm tuổi mẹ	n	Trung vị (Q1–Q3) FF (%)	Giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn
18–24	1323	15,9 (12,9–19,1)	16,22 ± 4,86
25–29	3357	16,1 (13,1–19,4)	16,47 ± 5,04
30–34	2922	15,9 (12,9–19,2)	16,36 ± 5,15
35–39	1365	15,6 (12,5–18,9)	15,99 ± 5,21
40–50	375	15,1 (12,0–19,1)	15,65 ± 5,39
Tổng	9342	15,9 (12,9–19,2)	16,29 ± 5,09

3.2.2. Phân tích nồng độ FF với các nhóm tuần thai

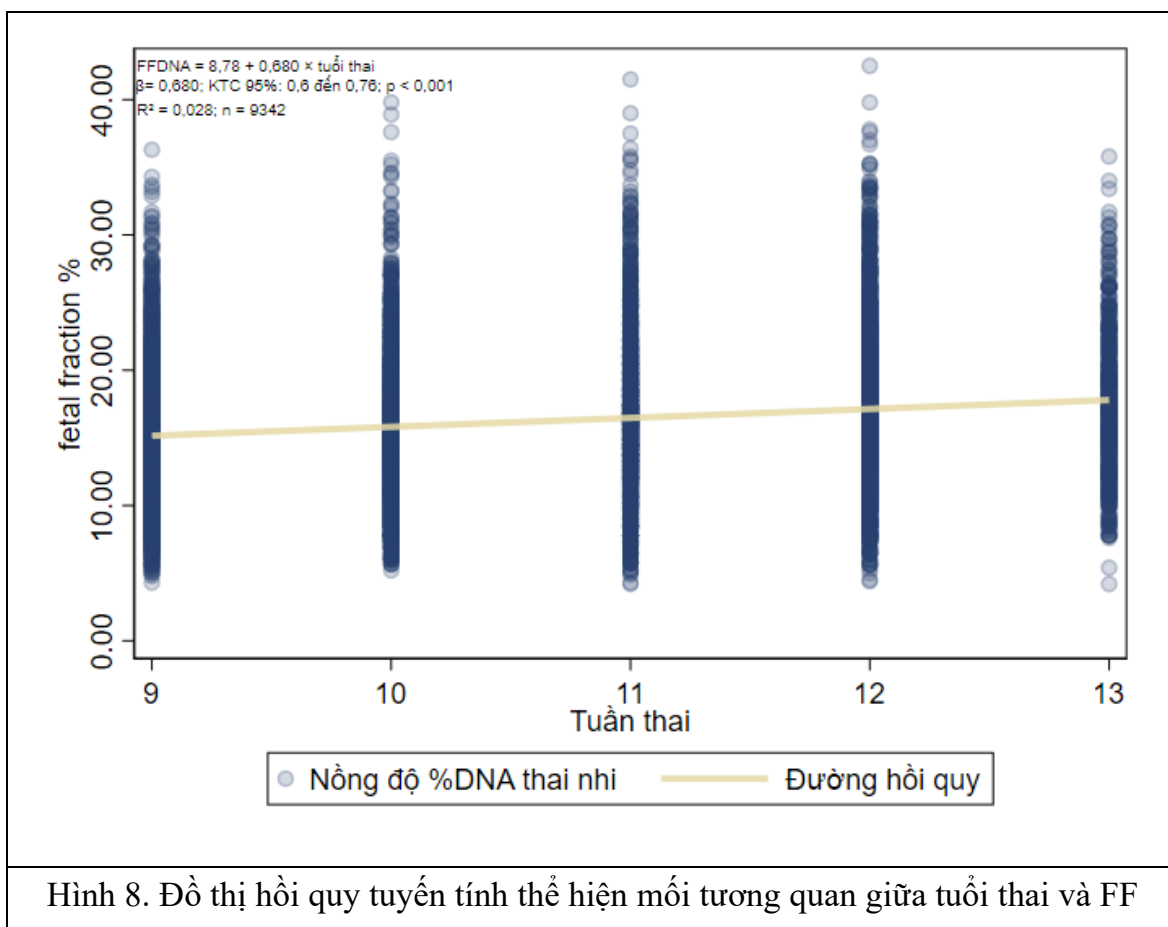
Phân tích hồi quy tuyến tính đơn biến ghi nhận mối liên quan thuận giữa tuổi thai và FF. Trong khoảng 9–13 tuần, khi tuổi thai tăng thêm 1 tuần, FF trung bình tăng 0,680 điểm phần trăm ($\beta = 0,680$; KTC 95%: 0,600–0,760; $p < 0,001$). Phương trình hồi quy là: $FF = 8,78 + 0,680 \times \text{tuổi thai}$. Hệ số xác định $R^2 = 0,028$ cho thấy tuổi thai chỉ giải thích một phần nhỏ biến thiên của FF trong bộ số liệu này.

Kết quả này cho thấy FF ước tính tăng từ khoảng 14,9% ở tuần thai thứ 9 lên khoảng 17,6% ở tuần thai thứ 13. Về mặt sinh học, xu hướng này phù hợp với quá trình phát triển của thai và nhau thai trong quý I thai kỳ. Khi tuổi thai tăng, thể tích và hoạt động chuyển hóa của nhau thai tăng lên, kéo theo sự gia tăng quá trình chết

theo chương trình của tế bào nuôi nhau thai, từ đó giải phóng nhiều cfDNA nguồn gốc nhau thai vào tuần hoàn mẹ hơn.

Kết quả nghiên cứu hiện tại tương đồng với nghiên cứu của Wang và cộng sự năm 2013 trên 22.384 thai đơn thực hiện xét nghiệm Harmony. Nhóm tác giả ghi nhận tỷ lệ cfDNA thai tăng dần theo tuổi thai trong giai đoạn 10–21 tuần và có ý nghĩa thống kê ($p < 0,0001$) [104]. Nghiên cứu cũng cho thấy khoảng 2% thai phụ trong giai đoạn này có fetal fraction dưới 4%. Deng và cộng sự, khi phân tích 153.306 thai phụ thực hiện NIPS tại Trung Quốc, cũng ghi nhận fetal fraction tăng theo tuổi thai và giảm theo tuổi mẹ cũng như BMI. Trung vị fetal fraction tăng từ 11,25% ở nhóm 12–16 tuần lên 11,37% ở nhóm 17–20 tuần, 12,32% ở nhóm 21–24 tuần và 15,15% ở nhóm ≥ 25 tuần; xu hướng tăng theo tuổi thai có ý nghĩa thống kê [9]. Tác giả giải thích rằng khi tuổi thai tăng, thể tích nhau thai lớn dần, số tế bào nuôi nhau thai chết theo chương trình cũng tăng, qua đó giải phóng nhiều cfDNA thai hơn vào máu mẹ [9].

Trong nghiên cứu hiện tại, mặc dù mối liên quan giữa tuổi thai và FF có ý nghĩa thống kê, hệ số xác định R^2 chỉ bằng 0,028. Tuổi thai chỉ giải thích được khoảng 2,8% biến thiên của FF. Tuổi thai có ảnh hưởng đến FF nhưng không phải là yếu tố quyết định chính. Trên biểu đồ, ở cùng một tuần thai, FF vẫn dao động rất rộng giữa các thai phụ. FF cần được xem xét cùng nhiều yếu tố khác như BMI hoặc cân nặng mẹ, tuổi mẹ, đặc điểm nhau thai, tình trạng thai, kỹ thuật tách chiết, phương pháp lập thư viện, độ sâu giải trình tự và thuật toán tính fetal fraction.



3.2.3. Kết quả nồng độ FF với chỉ số BMI

Phân tích fetal fraction (FF) theo nhóm BMI được thực hiện trên 9.342 mẫu đạt tiêu chuẩn QC. Nhóm BMI bình thường (18,5–22,9 kg/m²) chiếm tỷ lệ lớn nhất với 6.277 trường hợp, trong khi nhóm BMI $\geq 25,0$ kg/m² có số lượng ít nhất với 300 trường hợp. FF trung bình của toàn bộ nhóm đạt QC là $16,29 \pm 5,09\%$, trung vị 15,9% (12,9–19,2%). Kiểm định Kruskal–Wallis không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về FF giữa các nhóm BMI ($H = 1,85$; $p = 0,6051$).

Nhiều nghiên cứu cho thấy BMI của mẹ có liên quan nghịch với tỷ lệ DNA thai tự do. Khi BMI tăng, đặc biệt ở nhóm thừa cân hoặc béo phì, FF thường có xu hướng giảm. Một giải thích được đưa ra là ở phụ nữ có BMI cao, mô mỡ tăng hoạt động viêm mức độ thấp và tăng chết tế bào, làm giải phóng nhiều cfDNA có nguồn gốc từ mẹ vào tuần hoàn. Khi lượng cfDNA của mẹ tăng, phần cfDNA có nguồn gốc nhau thai bị pha loãng tương đối, dẫn đến FF giảm. Nghiên cứu của Haghiac và cộng

sự cho thấy ở phụ nữ mang thai béo phì, mô mỡ có hoạt động viêm và chết tế bào tăng, từ đó làm tăng giải phóng cfDNA của mẹ vào máu [105]. Tương tự, nghiên cứu của Poon và cộng sự trên 1.949 thai đơn ở tuổi thai 11–13 tuần ghi nhận cfDNA thai có tương quan nghịch với cân nặng mẹ, trong khi cfDNA nguồn gốc mẹ lại tăng theo cân nặng [106]. Tác giả nhận định sự giảm cfDNA thai theo cân nặng có thể liên quan đến hiệu ứng pha loãng, còn sự tăng cfDNA mẹ liên quan đến quá trình tái cấu trúc và tăng chuyển hóa tế bào mỡ [106].

Tuy nhiên, trong nghiên cứu hiện tại chưa ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê của FF giữa các nhóm BMI. Kết quả này khác với nghiên cứu của Deng và cộng sự năm 2023 trên hơn 153.000 thai phụ, trong đó FF giảm rõ rệt khi BMI tăng và xu hướng này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$) [9]. Sự khác biệt giữa các nghiên cứu có thể liên quan đến đặc điểm quần thể nghiên cứu. Trong nghiên cứu hiện tại, BMI trung bình của thai phụ chỉ ở mức $21,25 \pm 2,04 \text{ kg/m}^2$ và phần lớn tập trung trong khoảng bình thường, trong khi số trường hợp BMI $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ còn tương đối ít. Ngoài ra, nghiên cứu của Deng tách riêng nhóm BMI $\geq 30 \text{ kg/m}^2$, tức nhóm béo phì rõ hơn, ảnh hưởng của BMI lên FF được thể hiện rõ ràng hơn.

Kết quả của nghiên cứu hiện tại không phủ nhận vai trò của BMI đối với FF mà cho thấy ảnh hưởng này có thể chưa biểu hiện rõ trong quần thể chủ yếu có BMI bình thường hoặc chỉ tăng nhẹ.

Bảng 12. So sánh nồng độ FF giữa các nhóm chỉ số BMI			
Nhóm BMI (kg/m^2)	n	Trung vị (Q1–Q3), FF (%)	Giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn
<18,5	1080	16,0 (13,0–19,2)	$16,27 \pm 5,07$
18,5–22,9	6277	15,9 (12,8–19,2)	$16,25 \pm 5,06$
23,0–24,9	1685	16,0 (13,0–19,3)	$16,49 \pm 5,21$
$\geq 25,0$	300	16,0 (12,7–19,6)	$16,30 \pm 5,20$
Tổng	9342	15,9 (12,9–19,2)	$16,29 \pm 5,09$

3.2.4. Kết quả sàng lọc trước sinh từ tuần thứ 9

Trong 2.194 trường hợp được thực hiện NIPT ở tuổi thai 9 tuần, có 2.111 trường hợp nhận được kết quả, chiếm 96,22%, và 83 trường hợp không có kết quả, chiếm 3,78%. Ở nhóm tuổi thai 10–13 tuần, tỷ lệ có kết quả là 96,23% và tỷ lệ không có kết quả là 3,77%. Kiểm định Chi-square Pearson cho thấy sự khác biệt giữa hai nhóm không có ý nghĩa thống kê ($p = 0,971$). Kết quả này cho thấy trong điều kiện quy trình xét nghiệm của nghiên cứu hiện tại, NIPT có thể được triển khai từ tuần thai thứ 9 với tỷ lệ trả kết quả tương đương nhóm tuổi thai 10–13 tuần.

Tuổi thai trung bình tại thời điểm lấy mẫu trong nghiên cứu là $10,9 \pm 1,2$ tuần, dao động từ 9 tuần 0 ngày đến 13 tuần 6 ngày. Khoảng tuổi thai này cho thấy xét nghiệm chủ yếu được thực hiện trong quý I thai kỳ, phù hợp với mục tiêu sàng lọc sớm nhằm tạo thêm thời gian cho tư vấn và các bước chẩn đoán tiếp theo nếu phát hiện nguy cơ cao. Trong thực hành lâm sàng, nhiều thai phụ có nhu cầu thực hiện NIPT ngay từ tuần thai thứ 9 để sớm có thêm thông tin theo dõi thai kỳ, do đó khả năng triển khai xét nghiệm ở giai đoạn sớm có ý nghĩa thực tiễn quan trọng.

Kết quả của nghiên cứu hiện tại tương đồng với nghiên cứu của Zhang và cộng sự trên 146.958 thai phụ, trong đó NIPT cũng được thực hiện từ tuần thai thứ 9 [107]. Tuy nhiên, nghiên cứu của Zhang có khoảng tuổi thai rộng hơn, từ 9–36 tuần và chủ yếu tập trung ở quý II, trong khi nghiên cứu hiện tại chủ yếu thực hiện trong quý I. Dar và cộng sự năm 2022 ghi nhận tuổi thai trung vị khi lấy mẫu là 12,6 tuần, cao hơn khoảng 1–2 tuần so với nghiên cứu hiện tại [108]. Việc lấy mẫu ở tuổi thai sớm có thể làm tăng nguy cơ không có kết quả do fetal fraction thấp. Trong nghiên cứu hiện tại, tỷ lệ không có kết quả là khoảng 3,77%, tương đương với tỷ lệ 3,4% được Dar và cộng sự báo cáo sau lần lấy mẫu đầu tiên [108]. Mặc dù tỷ lệ trả kết quả ở nhóm 9 tuần tương đương nhóm 10–13 tuần, các trường hợp lấy mẫu sát mốc 9 tuần vẫn cần được tư vấn trước về khả năng FF thấp và nguy cơ phải lấy lại mẫu nếu kết quả không đạt tiêu chuẩn chất lượng.

Bảng 13. So sánh tỷ lệ trả kết quả NIPT giữa nhóm 9 tuần và nhóm 10–13 tuần

Thông tin	Nhóm 9 tuần	Nhóm 10–13 tuần	p
n	2194	7514	
Có kết quả NIPT, n (%)	2111 (96,22)	7231 (96,23)	0,971
Không có kết quả, n (%)	83 (3,78)	283 (3,77)	
Kết quả bình thường, n (%)	2040 (92,98)	7032 (93,58)	
Kết quả bất thường, n (%)	71 (3,24)	199 (2,65)	

3.3. KẾT QUẢ SÀNG LỌC TRƯỚC SINH KHÔNG XÂM LẤN

3.3.1. Kết quả phát hiện bất thường lệch bội NST thường gặp

Trong 9.342 mẫu có kết quả NIPT, nhóm lệch bội nhiễm sắc thể (NST) thường gặp gồm trisomy 13, trisomy 18 và trisomy 21 được ghi nhận ở 101 trường hợp, chiếm 1,08%. Trong đó, trisomy 21 là bất thường gặp nhiều nhất với 69 trường hợp, chiếm 0,74% số mẫu có kết quả NIPT và 68,32% trong nhóm bất thường NST thường gặp. Tiếp theo là trisomy 18 với 22 trường hợp (21,78%) và trisomy 13 với 10 trường hợp (9,90%).

Kết quả này cho thấy trisomy 21 là dạng lệch bội NST thường gặp nhất trong quần thể nghiên cứu, phù hợp với xu hướng được ghi nhận trong nhiều nghiên cứu NIPT trên thế giới. Zhang và cộng sự, trong nghiên cứu trên 146.958 mẫu NIPT, ghi nhận số trường hợp dương tính với trisomy 21, 18 và 13 lần lượt là 781, 218 và 67 trường hợp [107]. Nếu tính riêng trong nhóm ba trisomy thường gặp, trisomy 21 chiếm khoảng 73,26%, trisomy 18 chiếm 20,45% và trisomy 13 chiếm 6,29%. Phân bố này khá tương đồng với nghiên cứu hiện tại, đặc biệt ở điểm trisomy 21 chiếm tỷ lệ cao nhất, còn trisomy 13 chiếm tỷ lệ thấp nhất.

Kết quả nghiên cứu hiện tại cũng gần tương tự nghiên cứu của La Verde và cộng sự tại Ý trên 36.456 thai kỳ. Tác giả ghi nhận 254 trường hợp trisomy 21, 69 trường hợp trisomy 18 và 33 trường hợp trisomy 13 [98]. Tỷ lệ tương ứng trên tổng số mẫu lần lượt khoảng 0,70%, 0,19% và 0,09%, khá gần với kết quả của nghiên cứu hiện tại là 0,74%, 0,24% và 0,11% khi tính trên số mẫu có kết quả NIPT.

Sự tương đồng giữa các nghiên cứu cho thấy trisomy 21 vẫn là bất thường NST thường gặp nhất được phát hiện qua NIPT trong nhiều quần thể khác nhau. Điều này phù hợp với đặc điểm dịch tễ học của trisomy 21 trong thai kỳ cũng như khả năng sống sót cao hơn của thai trisomy 21 so với trisomy 18 và trisomy 13.

Bảng 14. Phân bố các bất thường lệch bội NST thường gặp			
Loại bất thường	Số ca (n)	Trên số mẫu có kết quả NIPT, n (%)	Tỷ lệ trong nhóm NST thường gặp (%)
NST 13	10	10/9342 (0,11)	9,90
NST 18	22	22/9342 (0,23)	21,78
NST 21	69	69/9342 (0,74)	68,32
Tổng	101	101/9342 (1,08)	100

3.3.2. Kết quả phát hiện bất thường lệch bội NST hiếm gặp

Trong 9.342 mẫu có kết quả NIPT, nhóm bất thường lệch bội nhiễm sắc thể (NST) hiếm gặp được ghi nhận ở 37 trường hợp, chiếm 0,40%. Trong đó, bất thường liên quan NST 7 gặp nhiều nhất với 13 trường hợp, chiếm 35,13% trong nhóm bất thường hiếm gặp. Các bất thường còn lại phân bố rải rác ở nhiều NST khác nhau như NST 16, NST 10, NST 15, NST 4, NST 14, NST 20 và NST 22; ngoài ra còn ghi nhận một số trường hợp bất thường phối hợp giữa NST 7 và NST 8.

Các nghiên cứu trước đây cho thấy nhóm bất thường NST hiếm gặp thường có ý nghĩa lâm sàng phức tạp và giá trị tiên đoán dương thấp hơn so với trisomy 13, 18 và 21. Do cfDNA trong máu mẹ chủ yếu có nguồn gốc từ nhau thai, kết quả NIPT nguy cơ cao đối với các bất thường này có thể phản ánh tình trạng khảm giới hạn ở nhau thai thay vì bất thường thật sự ở thai nhi. Vì vậy, các kết quả này chỉ được xem là kết quả sàng lọc và cần được tư vấn di truyền, theo dõi siêu âm cũng như xác nhận bằng các xét nghiệm chẩn đoán xâm lấn khi cần thiết. Theo hiệp hội sản phụ khoa Hoa Kỳ (ACOG) cũng nhấn mạnh rằng kết quả NIPT nguy cơ cao không được sử dụng như cơ sở duy nhất để đưa ra quyết định lâm sàng mà cần được xác nhận bằng sinh thiết gai nhau hoặc chọc ối [5].

Trong nghiên cứu hiện tại, nhóm bất thường NST hiếm gặp chưa được phân tích xác nhận chẩn đoán đầy đủ, do đó kết quả chỉ phản ánh tỷ lệ phát hiện nguy cơ cao trên NIPT, chưa thể kết luận là bất thường thật ở thai và cũng chưa đủ cơ sở để tính PPV, độ nhạy hoặc độ đặc hiệu cho nhóm này.

Kết quả nghiên cứu hiện tại tương đồng với nghiên cứu của Pertile trên 89.817 thai phụ, trong đó tỷ lệ phát hiện bất thường NST hiếm gặp là 0,34% và các NST thường gặp gồm NST 7, 15, 16 và 22 [62]. Tương tự, Yan khi phân tích 33.079 trường hợp NIPT cũng ghi nhận NST 7 là bất thường phổ biến nhất trong nhóm lệch bội NST hiếm gặp [109]. Các trường hợp được chẩn đoán trước sinh trong nghiên cứu này không xác nhận bất thường tương ứng ở thai, gợi ý rằng nhiều tín hiệu RATs trên NIPT có thể bắt nguồn từ khả năng giới hạn ở nhau thai hơn là bất thường thật sự của thai [5, 62, 109].

Bảng 15. Kết quả phát hiện bất thường lệch bội NST hiếm gặp			
Loại bất thường	Số ca (n)	Trên số mẫu có kết quả NIPT, n (%)	Tỷ lệ (%)
NST 3	1	1/9342 (0,01)	2,70
NST 4	2	2/9342 (0,02)	5,41
NST 7	13	13/9342 (0,14)	35,13
NST 7 và NST 8	2	2/9342 (0,02)	5,41
NST 8	1	1/9342 (0,01)	2,70
NST 9	1	1/9342 (0,01)	2,70
NST 10	3	3/9342 (0,03)	8,11
NST 11	1	1/9342 (0,01)	2,70
NST 14	2	2/9342 (0,02)	5,41
NST 15	3	3/9342 (0,03)	8,11
NST 16	4	4/9342 (0,04)	10,80
NST 20	2	2/9342 (0,02)	5,41
NST 22	2	2/9342 (0,02)	5,41

Tổng	37	37/9342 (0,40)	100
------	----	----------------	-----

3.3.3. Kết quả phát hiện bất thường lệch bội NST giới tính

Trong nghiên cứu hiện tại, bất thường lệch bội nhiễm sắc thể (NST) giới tính được phát hiện ở 132/9.342 mẫu có kết quả NIPT, chiếm 1,41%. Trong đó, 45,X là bất thường gặp nhiều nhất với 90 trường hợp, tương ứng 0,96% số mẫu có kết quả NIPT và 68,18% trong nhóm bất thường NST giới tính. Các bất thường còn lại có tỷ lệ thấp hơn, gồm 47,XYY với 18 trường hợp, 47,XXX với 14 trường hợp và 47,XXY với 10 trường hợp. Kết quả này cho thấy bất thường liên quan đến mất một NST X là nhóm được phát hiện nhiều nhất trong các kết quả NIPT nguy cơ cao đối với lệch bội NST giới tính.

Xu hướng này tương đồng với nhiều nghiên cứu trên thế giới. Deng và cộng sự, trong nghiên cứu trên 50.301 thai phụ, ghi nhận 308 trường hợp nguy cơ cao bất thường NST giới tính, chiếm 0,61%; trong đó 45,X là nhóm thường gặp nhất, cao hơn các nhóm 47,XXY, 47,XXX và 47,XYY [110]. Tuy nhiên, tỷ lệ phát hiện bất thường NST giới tính trong nghiên cứu hiện tại cao hơn nghiên cứu của Deng. Sự khác biệt này có thể liên quan đến đặc điểm quần thể nghiên cứu, tiêu chí chỉ định NIPT, thuật toán phân tích, ngưỡng kết luận nguy cơ cao và cách lựa chọn mẫu số giữa các hệ thống xét nghiệm khác nhau.

Một số nghiên cứu cũng cho thấy mặc dù 45,X thường được báo cáo nhiều nhất trong nhóm bất thường NST giới tính trên NIPT, nhưng giá trị tiên đoán dương (PPV) của nhóm này thường thấp hơn các trisomy NST giới tính. Lu và cộng sự, trên 45.773 thai phụ, ghi nhận PPV của 45,X thấp hơn rõ rệt so với các nhóm 47,XXX, 47,XXY và 47,XYY [5]. Kết quả tương tự cũng được báo cáo bởi Kim và cộng sự tại Hàn Quốc trên 9.176 thai phụ, trong đó PPV của 45,X chỉ đạt 18,75%, thấp hơn đáng kể so với các bất thường trisomy NST giới tính khác [111]. Điều này có thể liên quan đến đặc điểm sinh học của cfDNA, tình trạng khảm giới hạn ở nhau thai, khảm NST giới tính ở mẹ hoặc mất NST X do tuổi mẹ, làm tăng nguy cơ dương tính giả đối với monosomy X.

Kết quả nghiên cứu hiện tại phù hợp với xu hướng chung khi 45,X là bất thường NST giới tính được ghi nhận nhiều nhất trên NIPT [5, 62, 109-111]. nhóm bất thường NST giới tính chưa được đưa vào phân tích hiệu năng sàng lọc chính của nghiên cứu. Vì vậy, kết quả hiện tại chỉ phản ánh tỷ lệ phát hiện nguy cơ cao trên NIPT, chưa đủ cơ sở để đánh giá PPV, tỷ lệ dương tính giả hay độ chính xác thực sự của xét nghiệm đối với nhóm bất thường này.

Bảng 16. Kết quả phát hiện lệch bội NST giới tính			
Loại bất thường	Số ca (n)	Trên số mẫu có kết quả NIPT, n (%)	Tỷ lệ (%)
45,X	90	90/9342 (0,96)	68,18
47,XXY	18	18/9342 (0,19)	13,63
47,XXX	14	14/9342 (0,15)	10,61
47,XXY	10	10/9342 (0,11)	7,58
Tổng	132	132/9342 (1,41)	100

3.4. GIÁ TRỊ SÀNG LỌC CỦA XÉT NGHIỆM NIPT

3.4.1. Kết quả xác nhận chẩn đoán nhóm nguy cơ cao T13/T18/T21

Trong 101 trường hợp NIPT nguy cơ cao thuộc nhóm trisomy 13, 18 và 21, có 74 trường hợp được xác nhận là dương tính thật và 27 trường hợp là dương tính giả. Giá trị tiên đoán dương (PPV) chung của nhóm này đạt 73,27% (KTC 95% Wilson: 63,90–80,93%).

Bảng 17. Kết quả xâm lấn xác nhận NIPT nguy cơ cao nhóm NST thường gặp.				
Loại bất thường	Số ca dương tính	Dương tính thật (TP)	Dương tính giả (FP)	PPV, % (KTC 95%)
Trisomy 13	10	3	7	30,00 (10,78–60,32)
Trisomy 18	22	11	11	50,00 (30,72–69,28)

Trisomy 21	69	60	9	86,96 (77,03–92,98)
Tổng	101	74	27	73,27 (63,90–80,93)
<i>PPV: Giá trị tiên đoán dương = $TP/(TP+FP)$</i> <i>KTC 95%: khoảng tin cậy 95% theo phương pháp Wilson</i>				

Khi phân tích theo từng bất thường, trisomy 21 có PPV cao nhất, đạt 86,96%. Kết quả này tương đồng với nhiều nghiên cứu quốc tế như Liu và cộng sự (86,1%) hay Lu và cộng sự (86,81%), đồng thời nằm trong khoảng được Dar và cộng sự báo cáo. Điều này cho thấy kết quả NIPT nguy cơ cao đối với trisomy 21 có độ tin cậy tương đối cao và phù hợp với xu hướng chung trên thế giới. PPV của trisomy 21 thường cao hơn các trisomy khác do tần suất bệnh cao hơn, đồng thời tín hiệu lệch bội trên NIPT thường rõ ràng và ổn định hơn.

Đối với trisomy 18, PPV trong nghiên cứu hiện tại đạt 50,00%, thấp hơn kết quả của Zhang và cộng sự (76,61%) và Petersen và cộng sự (76%), nhưng tương đối gần với Liu và cộng sự (57,8%) cũng như Lu và cộng sự (56,81%). Trong nghiên cứu này, khoảng một nửa số trường hợp NIPT nguy cơ cao T18 được xác nhận là dương tính thật. Kết quả cho thấy NIPT vẫn có giá trị quan trọng trong sàng lọc trisomy 18, tuy nhiên không thể sử dụng như xét nghiệm chẩn đoán cuối cùng. Sự khác biệt giữa các nghiên cứu có thể liên quan đến đặc điểm quần thể, tuổi mẹ, chỉ định thực hiện NIPT, tỷ lệ bất thường siêu âm đi kèm cũng như phương pháp xác nhận sau sàng lọc.

Trisomy 13 là nhóm có PPV thấp nhất, đạt 30,00%, thấp hơn T21 và T18 nhưng tương đối gần với một số nghiên cứu lớn như Zhang và cộng sự (32,84%) và Liu và cộng sự (25,0%), đồng thời cao hơn kết quả của Lu và cộng sự (18,18%). Trong nghiên cứu hiện tại chỉ có 10 trường hợp NIPT nguy cơ cao T13, gồm 3 trường hợp dương tính thật và 7 trường hợp dương tính giả. Vì vậy, PPV của nhóm này đi kèm khoảng tin cậy rộng, phản ánh mức độ không chắc chắn do cỡ mẫu nhỏ.

Xu hướng PPV cao nhất ở trisomy 21, tiếp theo là trisomy 18 và thấp nhất ở trisomy 13 phù hợp với nhiều nghiên cứu quốc tế. Các trường hợp dương tính giả có

thể liên quan đến khảm giới hạn ở nhau thai, bất thường nhiễm sắc thể có nguồn gốc từ mẹ, song thai tiêu biến hoặc sự khác biệt sinh học giữa cfDNA nguồn gốc nhau thai và bộ nhiễm sắc thể thực sự của thai. Zhang và cộng sự cũng ghi nhận biến đổi số bản sao ở mẹ và khảm nhau thai là những nguyên nhân quan trọng gây kết quả NIPT dương tính giả hoặc âm tính giả [107].

Bảng 18. So sánh giá trị tiên đoán dương của nhóm T13/T18/T21				
Nghiên cứu	Cỡ mẫu (n)	PPV T21	PPV T18	PPV T13
Nghiên cứu hiện tại	101	86,96%	50,00%	30,00%
Zhang và cs [107]	909	92,19%	76,61%	32,84%
Petersen và cs [112]	450	84%	76%	45%
Liu và cs [113]	217	86,1%	57,8%	25,0%
Dar và cs [108]	133	85,7–97,5%	50,0–81,3%	62,5–83,3%
Lu và cs [114]	746	86,81%	56,81%	18,18%
<i>PPV: Giá trị tiên đoán dương, Cỡ mẫu trong bảng là số trường hợp NIPT nguy cơ cao T13/T18/T21 có kết quả xác nhận chẩn đoán.</i>				

3.4.2. Giá trị sàng lọc của xét nghiệm NIPT đối với nhóm T13/T18/T21

Phân tích giá trị sàng lọc đối với nhóm trisomy 13, 18 và 21 được thực hiện trên 9.342 mẫu có kết quả NIPT. Trong đó, có 101 trường hợp được phân loại nguy cơ cao đối với T13/T18/T21, gồm 74 trường hợp dương tính thật và 27 trường hợp dương tính giả. Tổng số trường hợp âm tính đối với nhóm bất thường này là 9.241, bao gồm 9.072 mẫu nguy cơ thấp và 169 mẫu nguy cơ cao thuộc nhóm bất thường NST giới tính hoặc bất thường NST hiếm gặp nhưng không dương tính với T13/T18/T21. Trong thời gian theo dõi, nghiên cứu chưa ghi nhận trường hợp âm tính giả.

Kết quả cho thấy NIPT có hiệu năng sàng lọc rất cao đối với nhóm T13/T18/T21, với độ nhạy đạt 100,00% (KTC 95% Wilson: 95,07–100,00), độ đặc hiệu 99,71% (KTC 95% Wilson: 99,58–99,80), giá trị tiên đoán dương (PPV) 73,27% (KTC 95% Wilson: 63,90–80,93) và giá trị tiên đoán âm (NPV) 100,00% (KTC 95%

Wilson: 99,96–100,00). Tỷ lệ dương tính giả là 0,29% và chưa ghi nhận trường hợp âm tính giả trong phạm vi theo dõi của nghiên cứu. Những kết quả này cho thấy phần lớn thai phụ không mang bất thường T13/T18/T21 được phân loại đúng vào nhóm nguy cơ thấp, đồng thời đa số trường hợp nguy cơ cao thực sự có bất thường khi được xác nhận bằng xét nghiệm chẩn đoán.

Tuy nhiên, kết quả NIPT nguy cơ cao vẫn cần được xem là kết quả sàng lọc chứ không phải chẩn đoán cuối cùng. Hiệp hội sản phụ khoa Hoa Kỳ khuyến cáo rằng các trường hợp NIPT dương tính cần được tư vấn di truyền, đánh giá siêu âm và xác nhận bằng các xét nghiệm chẩn đoán như sinh thiết gai nhau hoặc chọc ối trước khi đưa ra quyết định lâm sàng [5]. Trong nghiên cứu hiện tại, có 27/101 trường hợp nguy cơ cao được xác định là dương tính giả, cho thấy dù tỷ lệ dương tính giả thấp, xét nghiệm chẩn đoán xác nhận vẫn là bước bắt buộc trong thực hành lâm sàng.

Kết quả của nghiên cứu hiện tại tương đồng với nhiều nghiên cứu lớn trên thế giới. Lu và cộng sự năm 2024, trên 282.911 thai phụ, ghi nhận độ nhạy của NIPT đối với T21, T18 và T13 lần lượt là 99,25%, 98,33% và 100,00%; độ đặc hiệu đều xấp xỉ 99,97–99,98% [114]. PPV tương ứng là 86,81% đối với T21, 56,81% đối với T18 và 18,18% đối với T13. So với nghiên cứu này, PPV chung 73,27% của nghiên cứu hiện tại ở mức tương đối cao. Tuy nhiên, PPV phụ thuộc nhiều vào từng loại trisomy cũng như tỷ lệ từng bất thường trong quần thể nghiên cứu. Trisomy 21 thường có PPV cao hơn do tần suất bệnh cao hơn và tín hiệu lệch bội ổn định hơn, trong khi trisomy 13 dễ chịu ảnh hưởng bởi tần suất bệnh thấp và các yếu tố sinh học như khả năng giới hạn ở nhau thai [115].

Kết quả NIPT âm tính không loại trừ tuyệt đối tất cả bất thường nhiễm sắc thể. Trong nghiên cứu quy mô lớn của Zhang và cộng sự trên 146.958 thai phụ, nhóm tác giả ghi nhận 9 trường hợp âm tính giả, gồm 6 trường hợp trisomy 21 và 3 trường hợp trisomy 18. Độ nhạy của NIPT vẫn rất cao, lần lượt là 99,17% đối với T21, 98,24% đối với T18 và 100,00% đối với T13 [107]. So với nghiên cứu của Zhang, nghiên cứu hiện tại chưa ghi nhận âm tính giả, độ nhạy và giá trị tiên đoán âm đều đạt 100,00% trong phạm vi theo dõi. Sự khác biệt có thể liên quan đến cỡ mẫu, số ca bệnh thực sự,

thời gian theo dõi và cách xác nhận nhóm âm tính. Nghiên cứu của Lu và cộng sự năm 2024 trên 282.911 thai phụ cũng ghi nhận 7 trường hợp âm tính giả trong nhóm T13/T18/T21, dù độ nhạy vẫn duy trì ở mức rất cao. Ngoài ra, Zhao và cộng sự năm 2023 mô tả hai trường hợp NIPT âm tính giả đối với trisomy 21 trên nền tảng giải trình tự bán dẫn; các trường hợp này được cho là liên quan nhiều đến cơ chế sinh học, đặc biệt là khảm nhau thai, hơn là lỗi kỹ thuật đơn thuần [116].

Điều này có ý nghĩa quan trọng vì cfDNA trong máu mẹ chủ yếu có nguồn gốc từ nhau thai. Nếu bất thường tồn tại ở thai nhưng không hiện diện hoặc chỉ hiện diện với tỷ lệ thấp trong lớp tế bào nhau thai giải phóng cfDNA vào tuần hoàn mẹ, NIPT có thể cho kết quả nguy cơ thấp dù thai thực sự bất thường. Ngoài khảm nhau thai, các yếu tố như fetal fraction thấp, tuổi thai sớm, BMI mẹ cao, khảm ở thai hoặc bất thường cấu trúc NST cũng có thể làm tăng nguy cơ âm tính giả [117].

Bảng 19. Giá trị sàng lọc của NIPT đối với nhóm T13/T18/T21		
Thông tin	Số ca (n), tỷ lệ (%)	KTC 95%
Dương tính thật (TP)	74	-
Dương tính giả (FP)	27	
Âm tính thật (TN)	9241	
Âm tính giả (FN)	0	
Độ nhạy = $TP/(TP+FN) \times 100$	74/74 (100,00)	95,07–100,00
Độ đặc hiệu = $TN/(TN+FP) \times 100$	9241/9268 (99,71)	99,58–99,80
Giá trị tiên đoán dương (PPV)	74/101 (73,27)	63,90–80,93
Giá trị tiên đoán âm (NPV)	9241/9241 (100,00)	99,96–100,00
Tỷ lệ dương tính giả	27/9268 (0,29)	0,20–0,42
Tỷ lệ âm tính giả = $FN/(TP+FN)$	0/74 (0,00)	0,00–4,93
<i>KTC 95%: khoảng tin cậy 95%, Wilson; TP: dương tính thật; FP: dương tính giả; TN: âm tính thật; FN: âm tính giả.</i>		

KẾT LUẬN

Dựa trên hai mục tiêu chính của đề tài, nghiên cứu rút ra các kết luận sau:

Nghiên cứu được thực hiện trên 9.708 thai phụ mang thai đơn ở tuổi thai từ 9 tuần 0 ngày đến 13 tuần 6 ngày. Tuổi mẹ trung bình là $29,9 \pm 5,1$ tuổi, BMI trung bình $21,25 \pm 2,04$ kg/m². Có 9.342 mẫu đạt QC và có kết quả NIPT, trong khi 366 mẫu không đạt QC được ghi nhận là không có kết quả. Trong số 9.342 mẫu có kết quả NIPT, ghi nhận 9.072 trường hợp bình thường và 270 trường hợp NIPT nguy cơ cao.

Kết quả nghiên cứu hiện tại cho thấy NIPT có thể thực hiện từ tuần thai thứ 9 trong điều kiện quy trình xét nghiệm của nghiên cứu này. Tỷ lệ trả kết quả ở nhóm 9 tuần là 96,22%, gần tương đương nhóm 10–13 tuần là 96,23%; sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,971$.

1. Về các yếu tố liên quan đến tỷ lệ DNA thai tự do

- Nghiên cứu ghi nhận FF có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm tuổi mẹ. Nhóm 25–29 tuổi có FF cao nhất, trong khi nhóm 40–50 tuổi có FF thấp nhất.

- Tuổi thai có mối liên quan thuận với FF; khi tuổi thai tăng thêm 1 tuần, FF trung bình tăng khoảng 0,680 điểm phần trăm, tuy nhiên hệ số R^2 chỉ đạt 0,028, cho thấy tuổi thai chỉ giải thích được một phần nhỏ sự biến thiên của FF.

- Đối với BMI, nghiên cứu chưa ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về FF giữa các nhóm BMI với ($H = 1,85$; $p = 0,6051$).

2. Về giá trị sàng lọc của NIPT đối với nhóm T13/T18/T21 và mô tả các bất thường khác:

- Trong 9.342 mẫu có kết quả NIPT, nghiên cứu ghi nhận 270 trường hợp NIPT nguy cơ cao, chiếm 2,89%. Trong đó, nhóm T13/T18/T21 có 101 trường hợp (1,08%), nhóm bất thường NST hiếm gặp có 37 trường hợp (0,40%) và nhóm bất thường NST giới tính có 132 trường hợp (1,41%). Riêng nhóm T13/T18/T21 có PPV chung 73,27%, cao nhất ở T21 với 86,96%, tiếp theo là T18 50,00% và T13 30,00%.

- Đối với nhóm T13/T18/T21, NIPT đạt độ nhạy 100,00%, độ đặc hiệu 99,71%, NPV 100,00% và chưa ghi nhận âm tính giả trong phạm vi theo dõi. Do vẫn có tỷ lệ dương tính giả, các trường hợp NIPT nguy cơ cao cần được tư vấn di truyền và xác nhận bằng chẩn đoán trước sinh xâm lấn trước khi đưa ra quyết định lâm sàng.

Ý nghĩa khoa học chính:

- Đánh giá khả năng thực hiện NIPT ở tuần thai thứ 9.
- Phân tích mối liên quan giữa FF với các yếu tố của mẹ trên cỡ mẫu lớn.
- Cung cấp dữ liệu sàng lọc NIPT trên quần thể Việt Nam.

KIẾN NGHỊ

- Có thể triển khai NIPT trong sàng lọc trước sinh từ tuần thai thứ 9 khi mẫu đạt tiêu chuẩn chất lượng và tỷ lệ DNA thai tự do đủ ngưỡng phân tích. Cần tư vấn rõ cho thai phụ rằng NIPT là xét nghiệm sàng lọc, không thay thế xét nghiệm chẩn đoán.
- Các trường hợp NIPT nguy cơ cao, đặc biệt với T13/T18/T21, cần được tư vấn di truyền và xác nhận bằng chẩn đoán trước sinh xâm lấn như chọc ối hoặc sinh thiết gai nhau trước khi đưa ra quyết định lâm sàng.
- Đối với các mẫu không có kết quả do FF thấp hoặc QC không đạt, cần có quy trình tư vấn, theo dõi và lấy mẫu lại.
- Tiếp tục thực hiện các nghiên cứu có theo dõi đầy đủ, đặc biệt với nhóm bất thường NST giới tính và NST hiếm gặp, nhằm đánh giá chính xác hơn giá trị sàng lọc của NIPT đối với các nhóm này.

DANH MỤC BÀI BÁO ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN TỚI LUẬN VĂN

1. Tien, S. T., Van Khoa, T., Ho, H. S., Thu, H. L. T., Nguyen, N. N., Son, D. T., ... & Doan, H. T. (2026). Clinical Feasibility of Early First-Trimester Non-Invasive Prenatal Testing: Associations Between Gestational Age, Fetal Fraction, and No-Call Rates. *The Application of Clinical Genetics*, 19, 1-8.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Savva, G.M., K. Walker, and J.K. Morris, *The maternal age-specific live birth prevalence of trisomies 13 and 18 compared to trisomy 21 (Down syndrome)*. Prenatal Diagnosis: Published in Affiliation With the International Society for Prenatal Diagnosis, 2010. **30**(1): p. 57-64.
2. Springett, A., et al., *Congenital anomalies associated with trisomy 18 or trisomy 13: A registry-based study in 16 European countries, 2000–2011*. American journal of medical genetics Part A, 2015. **167**(12): p. 3062-3069.
3. Medicine, S.f.M.F., et al., *Society for Maternal-Fetal Medicine Consult Series# 74: Cell-free DNA screening for aneuploidies: Updated guidance*. Pregnancy, 2025. **1**(6): p. e70139.
4. Wang, D., et al., *The value of increasing sequencing depth for noninvasive prenatal screening for whole chromosomal aneuploidy*. Sci Rep, 2025. **15**(1): p. 2673.
5. Obstetricians, A.C.o., Gynecologists, and S.f.M.-F. Medicine, *Screening for fetal chromosomal abnormalities: ACOG practice bulletin, number 226*. Obstetrics & Gynecology, 2020. **136**(4): p. e48-e69.
6. Becking, E.C., et al., *Association between low fetal fraction in cell-free DNA screening and fetal chromosomal aberrations: a systematic review and meta-analysis*. Prenatal Diagnosis, 2023. **43**(7): p. 838-853.
7. Hou, Y., et al., *Association between cell-free DNA fetal fraction and pregnant character: a retrospective cohort study of 27,793 maternal plasmas*. Scientific Reports, 2023. **13**(1): p. 11420.
8. Bianchi, D.W. and R.W. Chiu, *Sequencing of circulating cell-free DNA during pregnancy*. New England Journal of Medicine, 2018. **379**(5): p. 464-473.
9. Deng, C., et al., *Maternal and fetal factors influencing fetal fraction: A retrospective analysis of 153,306 pregnant women undergoing noninvasive prenatal screening*. Frontiers in Pediatrics, 2023. **11**: p. 1066178.
10. Leon, S., et al., *Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy*. Cancer research, 1977. **37**(3): p. 646-650.
11. Anker, P., et al., *Detection of circulating tumour DNA in the blood (plasma/serum) of cancer patients*. Cancer and Metastasis Reviews, 1999. **18**(1): p. 65-73.
12. Mouliere, F., *A hitchhiker's guide to cell-free DNA biology*. Neurooncol Adv, 2022. **4**(Suppl 2): p. ii6-ii14.
13. Lo, Y.D., et al., *Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum*. The lancet, 1997. **350**(9076): p. 485-487.
14. Alberry, M., et al., *Free fetal DNA in maternal plasma in anembryonic pregnancies: confirmation that the origin is the trophoblast*. Prenatal Diagnosis: Published in Affiliation With the International Society for Prenatal Diagnosis, 2007. **27**(5): p. 415-418.

15. Kazemi, N.Y., et al., *Increased cell-free fetal DNA release after apoptosis and sterile inflammation in human trophoblast cells*. American Journal of Reproductive Immunology, 2021. **86**(5): p. e13483.
16. Lo, Y.D., et al., *Rapid clearance of fetal DNA from maternal plasma*. The American Journal of Human Genetics, 1999. **64**(1): p. 218-224.
17. Sharma, I., et al., *Proteomic Biomarkers of Maternal Plasma and Their Use in Noninvasive Prenatal Testing (NIPT)*, in *Non-invasive Prenatal Screening (NIPS) in Clinical Practice*. 2024, Springer. p. 105-127.
18. Dawson, S.-J., et al., *Analysis of circulating tumor DNA to monitor metastatic breast cancer*. New England Journal of Medicine, 2013. **368**(13): p. 1199-1209.
19. Bettegowda, C., et al., *Detection of circulating tumor DNA in early-and late-stage human malignancies*. Science translational medicine, 2014. **6**(224): p. 224ra24-224ra24.
20. Liao, C., et al., *Noninvasive prenatal diagnosis of common aneuploidies by semiconductor sequencing*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014. **111**(20): p. 7415-20.
21. Yang, S., et al., *The evolution of cell-free fetal DNA testing: expanded non-invasive prenatal testing and its effect on target populations*. Frontiers in Medicine, 2025. **12**: p. 1522680.
22. Ashoor, G., et al., *Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11–13 weeks' gestation: relation to maternal and fetal characteristics*. Ultrasound in Obstetrics & Gynecology, 2013. **41**(1): p. 26-32.
23. Wong, F.C., et al., *Cell-free DNA in maternal plasma and serum: A comparison of quantity, quality and tissue origin using genomic and epigenomic approaches*. Clinical biochemistry, 2016. **49**(18): p. 1379-1386.
24. Ma, G.C., et al., *Low-molecular-weight heparin associated with reduced fetal fraction and subsequent false-negative cell-free DNA test result for trisomy 21*. Ultrasound Obstet Gynecol, 2018. **51**(2): p. 276-277.
25. Tjio, J.H. and A. Levan, *The chromosome number of man*, in *Problems of birth defects: from Hippocrates to Thalidomide and After*. 1956, Springer. p. 112-118.
26. Ford, C.E. and J. Hamerton, *The chromosomes of man*. Acta genetica et statistica medica, 1956. **6**(2): p. 264-266.
27. Chia, N.L., S. Moore, and R.J. Hastings, *ISCN 2024: Summary of revisions and new nomenclature*. Cytogenetic and Genome Research, 2025. **165**(1): p. 1-8.
28. Rogol, A.D., *Sex chromosome aneuploidies and fertility: 47, XXY, 47, XYY, 47, XXX and 45, X/47, XXX*. Endocrine Connections, 2023. **12**(9).
29. Meyer, R.E., et al., *Survival of children with trisomy 13 and trisomy 18: a multi-state population-based study*. American journal of medical genetics Part A, 2016. **170**(4): p. 825-837.

30. Janvier, A., B. Farlow, and B.S. Wilfond, *The experience of families with children with trisomy 13 and 18 in social networks*. Pediatrics, 2012. **130**(2): p. 293-298.
31. Toufaily, M.H., et al., *Triploidy: variation of phenotype*. American Journal of Clinical Pathology, 2016. **145**(1): p. 86-95.
32. Dai, R., et al., *Effect of maternal age on spontaneous abortion during the first trimester in Northeast China*. The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine, 2018. **31**(14): p. 1824-1829.
33. Young, D., et al., *Infertility patients with chromosome inversions are not susceptible to an inter-chromosomal effect*. Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 2019. **36**(3): p. 509-516.
34. Munné, S., et al., *Negligible interchromosomal effect in embryos of Robertsonian translocation carriers*. Reproductive biomedicine online, 2005. **10**(3): p. 363-369.
35. Verdoni, A., et al., *Reproductive outcomes in individuals with chromosomal reciprocal translocations*. Genetics in Medicine, 2021. **23**(9): p. 1753-1760.
36. Li, S.-j., et al., *Chromosomal polymorphisms associated with reproductive outcomes after IVF-ET*. Journal of assisted reproduction and genetics, 2020. **37**(7): p. 1703-1710.
37. Trieu, S.T., et al., *Survey of Structural Autosomal Abnormalities and Autosomal Variants in Infertile Patients Treated at Some IVF Centers in Vietnam*. The Application of Clinical Genetics, 2025: p. 29-40.
38. Rao, B.V., et al., *Pericentric inversion of chromosome 9 [inv (9)(p12q13)]: Its association with genetic diseases*. Indian J Hum Genet, 2006. **12**(3): p. 129-132.
39. Alhalabi, M.M., A. Kakaje, and M. Alhalabi, *Hereditary chromosomal 9 inversion (p22q13) 9 as a cause for recurrent pregnancy loss: a case report*. Journal of Medical Case Reports, 2023. **17**(1): p. 427.
40. Schinzel, A., *Catalogue of unbalanced chromosome aberrations in man*. 2020: Walter de Gruyter GmbH & Co KG.
41. Yuan, J., et al., *Detection of chromosome aberrations in 17 054 individuals with fertility problems and their subsequent assisted reproductive technology treatments in Central China*. Human Reproduction, 2023. **38**(Supplement_2): p. ii34-ii46.
42. Hung, M.T., N.T. Hương, and Đ.T. Linh, *Giá trị xét nghiệm nhiễm sắc thể trong chẩn đoán trước sinh tại Bệnh viện Phụ sản Hà Nội*. Tạp chí Nghiên cứu Y học, 2025. **192**(7): p. 152-161.
43. Donze, S.H., et al., *Limited additional value of karyotyping cultured amniotic fluid cell colonies in addition to microarray on uncultured cells for confirmation of abnormal non-invasive prenatal testing results*. Prenatal Diagnosis, 2024. **44**(4): p. 401-408.

44. Chen, C.P., et al., *Prenatal diagnosis of low-level mosaic trisomy 20 by amniocentesis in a pregnancy with a favorable outcome*. Taiwan J Obstet Gynecol, 2020. **59**(2): p. 327-330.
45. Chen, X., et al., *Trends in the prevalence, prenatal diagnosis, and outcomes of births with chromosomal abnormalities: a hospital-based study in Zhejiang Province, China during 2014–2020*. Orphanet Journal of Rare Diseases, 2022. **17**(1): p. 446.
46. Loane, M., et al., *Twenty-year trends in the prevalence of Down syndrome and other trisomies in Europe: impact of maternal age and prenatal screening*. European Journal of Human Genetics, 2013. **21**(1): p. 27-33.
47. Williams, G.M. and R. Brady, *Patau syndrome*, in *StatPearls [Internet]*. 2023, StatPearls Publishing.
48. Cereda, A. and J.C. Carey, *The trisomy 18 syndrome*. Orphanet journal of rare diseases, 2012. **7**(1): p. 81.
49. Mrak, R.E. and W.S.T. Griffin, *Trisomy 21 and the brain*. Journal of Neuropathology & Experimental Neurology, 2004. **63**(7): p. 679-685.
50. Mégarbané, A., et al., *The 50th anniversary of the discovery of trisomy 21: the past, present, and future of research and treatment of Down syndrome*. Genetics in medicine, 2009. **11**(9): p. 611-616.
51. Butler, G., et al., *Klinefelter syndrome: going beyond the diagnosis*. Arch Dis Child, 2023. **108**(3): p. 166-171.
52. Tartaglia, N., et al., *48,XXYY, 48,XXXY and 49,XXXXY syndromes: not just variants of Klinefelter syndrome*. Acta Paediatr, 2011. **100**(6): p. 851-60.
53. Steiner, M. and P. Saenger, *Turner Syndrome: An Update*. Adv Pediatr, 2022. **69**(1): p. 177-202.
54. Gravholt, C.H., et al., *Clinical practice guidelines for the care of girls and women with Turner syndrome: proceedings from the 2016 Cincinnati International Turner Syndrome Meeting*. Eur J Endocrinol, 2017. **177**(3): p. G1-g70.
55. Berglund, A., K. Stockholm, and C.H. Gravholt, *The epidemiology of sex chromosome abnormalities*. Am J Med Genet C Semin Med Genet, 2020. **184**(2): p. 202-215.
56. Robinson, D.O. and P.A. Jacobs, *The origin of the extra Y chromosome in males with a 47,XYY karyotype*. Hum Mol Genet, 1999. **8**(12): p. 2205-9.
57. El-Dahtory, F. and H.M. Elsheikha, *Male infertility related to an aberrant karyotype, 47,XYY: four case reports*. Cases J, 2009. **2**(1): p. 28.
58. Stockholm, K., S. Juul, and C.H. Gravholt, *Diagnosis and mortality in 47,XYY persons: a registry study*. Orphanet J Rare Dis, 2010. **5**: p. 15.
59. Sood, B. and R.W. Clemente Fuentes, *Jacobs Syndrome*, in *StatPearls*. 2025, StatPearls Publishing

Copyright © 2025, StatPearls Publishing LLC.: Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: Roselyn Clemente Fuentes declares no relevant financial relationships with ineligible companies.

60. Tartaglia, N.R., et al., *A review of trisomy X (47,XXX)*. Orphanet J Rare Dis, 2010. **5**: p. 8.
61. Scott, F., et al., *Rare autosomal trisomies: Important and not so rare*. Prenatal diagnosis, 2018. **38**(10): p. 765-771.
62. Pertile, M.D., et al., *Rare autosomal trisomies, revealed by maternal plasma DNA sequencing, suggest increased risk of feto-placental disease*. Science translational medicine, 2017. **9**(405): p. eaan1240.
63. Acreman, M.L., et al., *The predictive value of prenatal cell-free DNA testing for rare autosomal trisomies: a systematic review and meta-analysis*. Am J Obstet Gynecol, 2023. **228**(3): p. 292-305.e6.
64. Nagaoka, S.I., T.J. Hassold, and P.A. Hunt, *Human aneuploidy: mechanisms and new insights into an age-old problem*. Nat Rev Genet, 2012. **13**(7): p. 493-504.
65. Hassold, T. and P. Hunt, *To err (meiotically) is human: the genesis of human aneuploidy*. Nature Reviews Genetics, 2001. **2**(4): p. 280-291.
66. May-Panloup, P., et al., *Ovarian ageing: the role of mitochondria in oocytes and follicles*. Hum Reprod Update, 2016. **22**(6): p. 725-743.
67. Elkarhat, Z., et al., *Chromosomal abnormalities in couples with recurrent spontaneous miscarriage: a 21-year retrospective study, a report of a novel insertion, and a literature review*. J Assist Reprod Genet, 2019. **36**(3): p. 499-507.
68. Muller, F., et al., *Parental origin of the extra chromosome in prenatally diagnosed fetal trisomy 21*. Hum Genet, 2000. **106**(3): p. 340-4.
69. Radwan, M., et al., *The association between environmental exposure to pyrethroids and sperm aneuploidy*. Chemosphere, 2015. **128**: p. 42-8.
70. Keen, C., et al., *The association between maternal occupation and down syndrome: A report from the national Down syndrome project*. International journal of hygiene and environmental health, 2020. **223**(1): p. 207-213.
71. Bianchi, D.W., et al., *DNA sequencing versus standard prenatal aneuploidy screening*. N Engl J Med, 2014. **370**(9): p. 799-808.
72. Chiu, R.W., et al., *Noninvasive prenatal diagnosis of fetal chromosomal aneuploidy by massively parallel genomic sequencing of DNA in maternal plasma*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008. **105**(51): p. 20458-63.
73. Fan, H.C., et al., *Noninvasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008. **105**(42): p. 16266-71.
74. Lannoo, L., et al., *Rare autosomal trisomies detected by non-invasive prenatal testing: an overview of current knowledge*. Eur J Hum Genet, 2022. **30**(12): p. 1323-1330.
75. Taylor-Phillips, S., et al., *Accuracy of non-invasive prenatal testing using cell-free DNA for detection of Down, Edwards and Patau syndromes: a systematic review and meta-analysis*. BMJ Open, 2016. **6**(1): p. e010002.

76. Poulton, A. and L. Hui, *Noninvasive prenatal testing: an overview*. Aust Prescr, 2025. **48**(2): p. 47-53.
77. Deans, Z.C., et al., *Ensuring high standards for the delivery of NIPT world-wide: Development of an international external quality assessment scheme*. Prenatal Diagnosis, 2019. **39**(5): p. 379-387.
78. Deng, C. and S. Liu, *Factors affecting the fetal fraction in noninvasive prenatal screening: a review*. Frontiers in pediatrics, 2022. **10**: p. 812781.
79. Mardis, E.R., *Next-generation DNA sequencing methods*. Annu Rev Genomics Hum Genet, 2008. **9**: p. 387-402.
80. Shendure, J. and H. Ji, *Next-generation DNA sequencing*. Nature biotechnology, 2008. **26**(10): p. 1135-1145.
81. Behjati, S. and P.S. Tarpey, *What is next generation sequencing?* Arch Dis Child Educ Pract Ed, 2013. **98**(6): p. 236-8.
82. Rothberg, J.M., et al., *An integrated semiconductor device enabling non-optical genome sequencing*. Nature, 2011. **475**(7356): p. 348-352.
83. Merriman, B., I.T. D Team, and J.M. Rothberg, *Progress in ion torrent semiconductor chip based sequencing*. Electrophoresis, 2012. **33**(23): p. 3397-3417.
84. Hu, T., et al., *Next-generation sequencing technologies: An overview*. Hum Immunol, 2021. **82**(11): p. 801-811.
85. Slatko, B.E., A.F. Gardner, and F.M. Ausubel, *Overview of Next-Generation Sequencing Technologies*. Curr Protoc Mol Biol, 2018. **122**(1): p. e59.
86. Pickrell, W.O., M.I. Rees, and S.-K. Chung, *Next generation sequencing methodologies-an overview*. Advances in protein chemistry and structural biology, 2012. **89**: p. 1-26.
87. Boom, R., et al., *Rapid and simple method for purification of nucleic acids*. J Clin Microbiol, 1990. **28**(3): p. 495-503.
88. Heid, C.A., et al., *Real time quantitative PCR*. Genome Res, 1996. **6**(10): p. 986-94.
89. Lim, J.H., S.Y. Park, and H.M. Ryu, *Non-invasive prenatal diagnosis of fetal trisomy 21 using cell-free fetal DNA in maternal blood*. Obstet Gynecol Sci, 2013. **56**(2): p. 58-66.
90. Levy, B. and R. Wapner, *Prenatal diagnosis by chromosomal microarray analysis*. Fertil Steril, 2018. **109**(2): p. 201-212.
91. Pergament, E., et al., *The clinical application of interphase FISH in prenatal diagnosis*. Prenat Diagn, 2000. **20**(3): p. 215-20.
92. Weremowicz, S., et al., *Fluorescence in situ hybridization (FISH) for rapid detection of aneuploidy: experience in 911 prenatal cases*. Prenat Diagn, 2001. **21**(4): p. 262-9.
93. Qiao, J., et al., *Combined diagnosis of QF-PCR and CNV-Seq in fetal chromosomal abnormalities: A new perspective on prenatal diagnosis*. J Clin Lab Anal, 2022. **36**(4): p. e24311.

94. Langlois, S., et al., *Use of a DNA method, QF-PCR, in the prenatal diagnosis of fetal aneuploidies*. Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada, 2011. **33**(9): p. 955-960.
95. Schmidt, W., et al., *Detection of aneuploidy in chromosomes X, Y, 13, 18 and 21 by QF-PCR in 662 selected pregnancies at risk*. Mol Hum Reprod, 2000. **6**(9): p. 855-60.
96. Dương, C.T., et al., *SÀNG LỘC TRƯỚC SINH KHÔNG XÂM LẤN NIPT VÀ ỨNG DỤNG TRÊN 7015 THAI PHỤ TẠI TRUNG TÂM XÉT NGHIỆM QUỐC TẾ GENTIS*. Tạp chí Y học Việt Nam, 2021. **503**(2).
97. Cuc, P.H., et al., *Value of Non-invasive Prenatal Test (NIPT) for comprehensive fetal aneuploidies screening*. Tạp chí Nghiên cứu Y học, 2024. **184**(11E15): p. 52-61.
98. La Verde, M., et al., *Performance of cell-free DNA sequencing-based non-invasive prenatal testing: experience on 36,456 singleton and multiple pregnancies*. BMC medical genomics, 2021. **14**(1): p. 93.
99. Khalil, A., et al., *Noninvasive prenatal screening in twin pregnancies with cell-free DNA using the IONA test: a prospective multicenter study*. American Journal of Obstetrics and Gynecology, 2021. **225**(1): p. 79. e1-79. e13.
100. Norton, M.E., et al., *Cell-free DNA analysis for noninvasive examination of trisomy*. New England Journal of Medicine, 2015. **372**(17): p. 1589-1597.
101. White, K., et al., *Factors associated with obtaining results on repeat cell-free DNA testing in samples redrawn due to insufficient fetal fraction*. The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine, 2020. **33**(23): p. 4010-4015.
102. Creswell, L., et al., *Cell free DNA screening for fetal aneuploidy in Ireland: An observational study of outcomes following insufficient fetal fraction*. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology, 2023. **290**: p. 143-149.
103. Hestand, M.S., et al., *Fetal fraction evaluation in non-invasive prenatal screening (NIPS)*. European Journal of Human Genetics, 2019. **27**(2): p. 198-202.
104. Wang, E., et al., *Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma*. Prenatal diagnosis, 2013. **33**(7): p. 662-666.
105. Haghiac, M., et al., *Increased death of adipose cells, a path to release cell-free DNA into systemic circulation of obese women*. Obesity, 2012. **20**(11): p. 2213-2219.
106. Poon, L., et al., *Maternal plasma cell-free fetal and maternal DNA at 11-13 weeks' gestation: relation to fetal and maternal characteristics and pregnancy outcomes*. Fetal diagnosis and therapy, 2013. **33**(4): p. 215-223.
107. Zhang, H., et al., *Non-invasive prenatal testing for trisomies 21, 18 and 13: clinical experience from 146,958 pregnancies*. Ultrasound Obstet Gynecol, 2015. **45**(5): p. 530-8.

108. Dar, P., et al., *Cell-free DNA screening for trisomies 21, 18, and 13 in pregnancies at low and high risk for aneuploidy with genetic confirmation*. Am J Obstet Gynecol, 2022. **227**(2): p. 259.e1-259.e14.
109. Yan, X., et al., *Analysis of prenatal diagnosis and pregnancy outcomes for rare autosomal trisomies detected by non-invasive prenatal testing in 33,079 cases*. BMC Medical Genomics, 2025. **18**(1): p. 29.
110. Deng, C., et al., *Clinical application of noninvasive prenatal screening for sex chromosome aneuploidies in 50,301 pregnancies: initial experience in a Chinese hospital*. Sci Rep, 2019. **9**(1): p. 7767.
111. Kim, H., et al., *Clinical evaluation of noninvasive prenatal testing for sex chromosome aneuploidies in 9,176 Korean pregnant women: a single-center retrospective study*. BMC Pregnancy Childbirth, 2024. **24**(1): p. 93.
112. Petersen, A.K., et al., *Positive predictive value estimates for cell-free noninvasive prenatal screening from data of a large referral genetic diagnostic laboratory*. Am J Obstet Gynecol, 2017. **217**(6): p. 691.e1-691.e6.
113. Liu, S., et al., *Positive predictive value estimates for noninvasive prenatal testing from data of a prenatal diagnosis laboratory and literature review*. Mol Cytogenet, 2022. **15**(1): p. 29.
114. Lu, Y.S., et al., *Performance analysis of non-invasive prenatal testing for trisomy 13, 18, and 21: A large-scale retrospective study (2018-2021)*. Heliyon, 2024. **10**(13): p. e33437.
115. Gil, M.M., et al., *Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for aneuploidies: updated meta-analysis*. Ultrasound Obstet Gynecol, 2017. **50**(3): p. 302-314.
116. Zhao, Q., et al., *Two cases of placental trisomy 21 mosaicism causing false-negative NIPT results*. Mol Cytogenet, 2023. **16**(1): p. 16.
117. Van Opstal, D., et al., *False Negative NIPT Results: Risk Figures for Chromosomes 13, 18 and 21 Based on Chorionic Villi Results in 5967 Cases and Literature Review*. PLoS One, 2016. **11**(1): p. e0146794.

Hà Nội, Ngày 05 tháng 07 năm 2026

HƯỚNG DẪN 1

HƯỚNG DẪN 2

HỌC VIÊN

PGS.TS. Triệu Tiến Sang

PGS.TS. Tạ Thị Thu Thủy

Đặng Thái Sơn

Phụ lục 1

PHIẾU ĐỒNG THUẬN XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC TRƯỚC SINH KHÔNG XÂM LẤN – NIPT

I. THÔNG TIN THAI PHỤ

Họ tên thai phụ: Tuổi/năm sinh:
Địa chỉ: Điện thoại:
Cân nặng: Chiều cao:
Tuần thai: tuần..... ngày; Tiền sử mang thai:.....
Thụ thai tự nhiên:; IVF: Ống EDTA (bảo quản 2–8°C, <24 giờ)
Kết quả siêu âm ngày: Một thai: Song thai:; Đa thai:
Mang thai lần thứ: Thời gian lấy mẫu: giờ, ngày tháng năm

II. THÔNG TIN VỀ XÉT NGHIỆM

- NIPT là xét nghiệm sàng lọc di truyền thực hiện trên mẫu máu mẹ, có độ chính xác cao đối với các lệch bội NST 13, 18 và 21. Tuy nhiên, đây không phải là xét nghiệm chẩn đoán, vì vậy vẫn có khả năng dương tính giả hoặc âm tính giả.
- Kết quả xét nghiệm chỉ có giá trị đối với mẫu máu đã được tiếp nhận và phân tích. Hiệu năng sàng lọc đối với bất thường NST giới tính và các NST khác có thể thay đổi tùy từng loại bất thường. Với thai đôi, đa thai hoặc thai tiêu biến, kết quả chỉ có giá trị tham khảo và cần được bác sĩ tư vấn cụ thể.
- Một số nguyên nhân có thể làm kết quả không chính xác gồm: thể khảm, khảm nhau thai, tỷ lệ DNA thai tự do trong máu mẹ thấp, tuổi thai dưới 9 tuần, đa thai hoặc thai tiêu biến, mẫu không đạt chất lượng do huyết tán/bảo quản không đúng cách, mẹ mắc bệnh lý ác tính, đã truyền máu hoặc ghép tạng.
- Kết quả “nguy cơ cao” hoặc “bất thường” cần được xác nhận bằng xét nghiệm chẩn đoán trước sinh trên dịch ối hoặc sinh thiết gai nhau, chẳng hạn Karyotype, FISH, QF-PCR hoặc CNV-seq, tùy chỉ định lâm sàng.
- Tất cả thông tin của thai phụ được bảo mật, mã hóa và chỉ sử dụng cho mục đích xét nghiệm/nghiên cứu theo quy định.

Sản phụ ký tên

Phụ lục 2

Tách chiết DNA và xây dựng thư viện cho mẫu ối (CNV-seq)

Tiền xử lý		Mẫu dịch ối được bảo quản ở 4°C, sau đó ly tâm ở 1.600 × g trong 20 phút. Sau ly tâm, loại bỏ phần lớn dịch nổi, chỉ giữ lại khoảng 250 µL dịch nổi cùng toàn bộ cặn tế bào để tiến hành tách chiết.
Tách chiết bằng hạt từ	Ly giải và gắn DNA lên hạt từ	Cho vào ống ly tâm 1,5 mL: 200 µL huyền phù tế bào từ mẫu dịch ối, 20 µL Proteinase K và 200 µL Buffer AL, sau đó ủ ở 65°C trong 15 phút. Tiếp tục thêm 20 µL Beads N và 400 µL Buffer BD, đảo trộn 20–30 lần hoặc vortex mạnh trong 1–2 phút, rồi để ở nhiệt độ phòng 5 phút để DNA gắn lên hạt từ.
	Rửa hạt từ	Ly tâm nhanh 5 giây, đặt ống lên giá từ trong 3 phút và bỏ dịch nổi khi dung dịch đã trong. Thêm 600 µL Buffer BW1, vortex 30 giây, ly tâm nhanh 5 giây, đặt lại lên giá từ 1 phút rồi bỏ dịch nổi. Sau đó thêm 600 µL ethanol 75%, vortex 30 giây, ly tâm nhanh 5 giây, đặt lên giá từ 1 phút và bỏ dịch nổi. Lặp lại bước rửa bằng ethanol 75% thêm một lần nữa.
	Làm khô và thu DNA	Ly tâm nhanh 5 giây, đặt lên giá từ 1 phút, loại bỏ hoàn toàn dịch còn sót và để khô ở nhiệt độ phòng khoảng 5 phút. Sau đó thêm 100 µL Buffer EB, vortex 1 phút để phân tán hạt và ủ ở 55°C trong 10 phút. Cuối cùng, đặt ống lên giá từ 1 phút, chuyển phần dịch trong chứa DNA sang ống mới đã ghi nhãn và bảo quản ở –30 đến –10°C hoặc $\leq -70^{\circ}\text{C}$ cho đến khi làm thư viện.

	Định lượng DNA sau tách chiết	DNA thu được định lượng bằng Qubit		
Chuẩn bị thư viện		Hóa chất	Thể tích (μ L)	Chu trình chạy
	Phân mảnh DNA	Genomic DNA	7,0	4°C trong 1 phút; 32°C trong 10 phút; 65°C trong 10 phút; giữ ở 4°C
		Fragment Buffer	1,0	
		Fragment Enzyme Mix	2,0	
		Tổng thể tích	10	
	Gắn adapter và barcode	DNA sau phân mảnh	10	25°C trong 30 phút.
		nuclease-free water	6,4	
		Ligation Buffer	2	
		Ligation Enzyme	0,4	
		Adapter	0,8	
		Barcode	0,8	
		Tổng thể tích	20,4	
	Khuếch đại thư viện	DNA đã gắn adapter	20,4	72°C trong 5 phút; 95°C trong 2 phút; 5 chu kỳ gồm: 98°C trong 20 giây 65°C trong 30 giây 72°C trong 30 giây 72°C trong 2 phút
		PCR Mix	20	
		PCR Primer Mix	1,6	
		Tổng thể tích	42	

				giữ ở 4°C.
	Tinh sạch sản phẩm PCR	Chuyển toàn bộ sản phẩm PCR sau khuếch đại vào ống chứa 45 µL hạt từ, vortex 3 giây, để yên 5 phút, đặt lên giá từ 3 phút rồi bỏ dịch nổi; rửa hai lần bằng 500 µL ethanol 75%. Sau rửa, loại bỏ ethanol dư và mở nắp để khô. Cuối cùng thêm 50 µL TE Buffer, để yên 5 phút, đặt lên giá từ đến khi dung dịch trong và chuyển 40 µL dịch nổi sang ống mới. Mẫu được bảo quản ở –30 đến –10°C trước khi định lượng và giải trình tự.		
Giải trình tự gen	Quy trình	Chuẩn bị mẫu khuôn, pha loãng thư viện, khuếch đại trên Ion OneTouch 2, làm giàu template trên Ion OneTouch ES, nạp chip và chạy giải trình tự như đã mô tả ở Phần II – Phương pháp nghiên cứu.		

Phụ lục 3

HỌC VIỆN QUÂN Y
HỘI ĐỒNG ĐẠO ĐỨC
TRONG NGHIÊN CỨU Y SINH
Số: 02 /2026/CNChT-HĐĐĐ

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập- Tự do – Hạnh phúc

Hà Nội, ngày 15 tháng 01 năm 2026

CHỨNG NHẬN Chấp thuận đề cương nghiên cứu

Căn cứ Quyết định số 3934/QĐ-HVQY ngày 19 tháng 9 năm 2023 của Giám đốc Học viện về việc thành lập Hội đồng, Thành viên thay thế và Ban thư ký Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học cấp cơ sở Học viện Quân y nhiệm kỳ 2023 - 2028;

Căn cứ Quy chế tổ chức và hoạt động của Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học Học viện Quân y;

Căn cứ Biên bản họp hội đồng theo hình thức đầy đủ ngày 08 /01/2026;

Căn cứ Bản giải trình của Nghiên cứu viên chính;

Xét đề nghị của thường trực Hội đồng Đạo đức Học viện Quân y nhiệm kỳ 2023 – 2028;

Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học Học viện Quân y chấp thuận:

A. Khía cạnh đạo đức và tính khả thi đối với nghiên cứu:

1. Tên nghiên cứu: Nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng đến nồng độ DNA thai tự do và xác định giá trị của kết quả sàng lọc trước sinh không xâm lấn.

2. Chủ nhiệm đề tài: PGS, TS Trịnh Thế Sơn

3. Tổ chức chủ trì: Học viện Quân y

4. Địa điểm triển khai: Viện Mô phôi lâm sàng Quân đội- Học viện Quân y và Bộ môn Y sinh học di truyền- Học viện Quân y.

5. Mục tiêu nghiên cứu:

- Phân tích mối liên quan giữa nồng độ DNA thai tự do và các yếu tố tuổi mẹ, tuổi thai và chỉ số khối cơ thể (BMI)

- Đánh giá kết quả sàng lọc lệch bội nhiễm sắc thể của xét nghiệm NIPT.

6. Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 11 năm 2025 đến tháng 11 năm 2026.



B. Cho phép sử dụng các tài liệu sau trong nghiên cứu nêu trên:

STT	Tên tài liệu	Phiên bản/Ngày
I. HỒ SƠ NGHIÊN CỨU		
1.	Thuyết minh đề tài	Tiếng Việt, phê duyệt ngày 15/01/2026
2.	Chiến lược tuyển chọn và bảo vệ đối tượng nghiên cứu là con người	Tiếng Việt, phê duyệt ngày 15/01/2026
3.	Hồ sơ nghiên cứu	Tiếng Việt, phê duyệt ngày 15/01/2026
4.	Phiếu cung cấp thông tin cho đối tượng tham gia nghiên cứu	Tiếng Việt, phê duyệt ngày 15/01/2026
5.	Đơn tình nguyện tham gia nghiên cứu	Tiếng Việt, phê duyệt ngày 15/01/2026
6.	Quy trình tuyển chọn đối tượng và thu thập phiếu cung cấp thông tin và chấp thuận tham gia nghiên cứu	Tiếng Việt, phê duyệt ngày 15/01/2026
7.	Quy trình theo dõi, đánh giá, xử trí biến cố bất lợi	Tiếng Việt, phê duyệt ngày 15/01/2026
II. HỒ SƠ NGHIÊN CỨU VIÊN		
8.	Lý lịch khoa học và chứng chỉ chuyên môn của chủ nhiệm đề tài	Tiếng Việt, phê duyệt ngày 15/01/2026
9.	Bản cam kết thực hiện theo đúng các nguyên tắc về đạo đức trong nghiên cứu của nhà nghiên cứu	Tiếng Việt, phê duyệt ngày 15/01/2026

Ngày chấp thuận: ngày 15 / 01 / 2026

Nghiên cứu viên chính có trách nhiệm:

- Tuân thủ đề cương nghiên cứu được phê duyệt, các quy trình thực hiện chuẩn, các nguyên tắc GCP, các quy định của pháp luật hiện hành về đạo đức nghiên cứu.

- Báo cáo Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học các biến cố bất lợi theo đúng các hướng dẫn và quy định hiện hành.

- Báo cáo Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học xem xét và chấp thuận những thay đổi, sai lệch hay chỉnh sửa đề cương đã được phê duyệt và mẫu chấp thuận tham gia nghiên cứu, các tài liệu cung cấp thông tin cho đối tượng tham gia nghiên cứu trước khi áp dụng trong nghiên cứu, trừ trường hợp rõ ràng cần thiết thay đổi để loại trừ nguy cơ trực tiếp cho đối tượng.

- Báo cáo tiến độ triển khai nghiên cứu cho Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học 10 ngày trước ngày hết hạn của giấy chấp thuận này hoặc khi có yêu cầu của Hội đồng.

- Thông báo về việc ngừng nghiên cứu, kết thúc nghiên cứu trước thời hạn hoàn thành dự kiến, lý do của việc kết thúc sớm./.



TM. HỘI ĐỒNG
KT. CHỦ TỊCH
PHÓ CHỦ TỊCH

PHÓ GIÁM ĐỐC
Thiếu tướng Trần Ngọc Tuấn

Nơi nhận:

- Đ/c Trịnh Thế Sơn;
- Tổ chức chủ trì;
- Cơ quan chủ quản;
- Lưu: J6, HĐĐĐ. Tn06.

