

CHƯƠNG VI.

**SỰ PHÁT TRIỂN CỦA PHÔI GIAI ĐOẠN SỚM:
NHỮNG VẤN ĐỀ VỀ DI TRUYỀN VÀ THƯỢNG DI TRUYỀN**

Bài 1.

SỰ PHÁT TRIỂN PHÔI GIAI ĐOẠN SỚM: VẤN ĐỀ THUỘC DI TRUYỀN

Bùi Võ Minh Hoàng

© Bộ môn Phụ Sản, Khoa Y, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

Bộ môn Mô Phôi - Di truyền, e-mail: bvminhhoang@ump.edu.vn.

Mục tiêu bài giảng

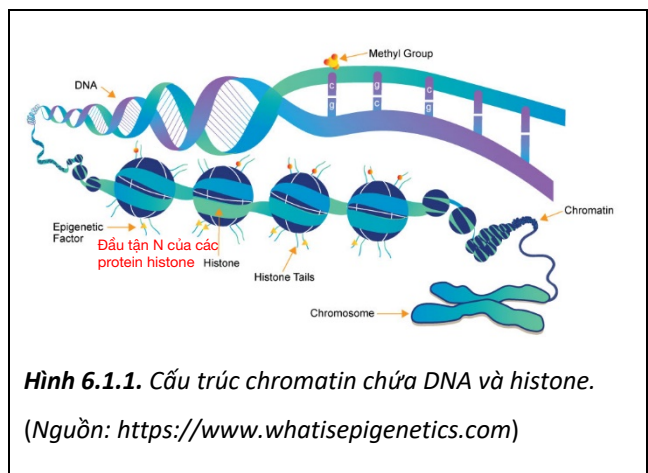
1. Trình bày các cơ chế tác động của thuộc di truyền.
2. Trình bày sự tác động của thuộc di truyền lên sự phát triển phôi ở giai đoạn phôi tiền làm tổ.

1. CÁC CƠ CHẾ TÁC ĐỘNG CỦA THUỘC DI TRUYỀN

Thuộc di truyền (epigenetics) là khoa học nghiên cứu những thay đổi trong biểu hiện gene và những chức năng khác của gene, những thay đổi này có thể di truyền được nhưng không liên quan đến trình tự của DNA.

Hầu hết các tế bào trong cơ thể đều cùng chia sẻ vật liệu di truyền được mã hóa từ trình tự DNA, nhưng lại khác biệt về hình thái và chức năng. Quá trình tạo ra những khác biệt này được gọi là thuộc di truyền. Các biến đổi thuộc di truyền phân bố ở các vùng chuyên biệt của DNA nhằm thu hút hoặc né tránh các protein kích hoạt gene. Nhờ vậy những biến đổi này dần dần hình thành nên những khuôn mẫu điển hình cho vùng DNA hoạt động và vùng DNA bất hoạt ở mỗi loại tế bào. Ngoài ra, trái ngược với trình tự cố định của chuỗi DNA, những ghi dấu thuộc di truyền có thể thay đổi trong suốt cuộc đời để đáp ứng với môi trường hoặc lối sống của mỗi cá thể. Những biến đổi thuộc di truyền trong một số trường hợp có thể truyền lại cho thế hệ sau.

Thuộc di truyền có nhiều cơ chế phân tử khác nhau có thể làm thay đổi hình thái hoặc chức năng của một tế bào hay của một sinh vật mà không làm thay đổi trình tự DNA của tế bào hay sinh vật đó. Các cơ chế phân tử này bao gồm methyl hóa DNA, các biến đổi histone và những phân tử RNA không mã hóa.



1.1. Methyl hóa DNA

Sự methyl hóa DNA xảy ra khi những nhóm methyl được gắn thêm vào phân tử DNA. Quá trình này có thể làm thay đổi hoạt động của một phần DNA mà không làm thay đổi trình tự. Khi sự methyl hóa DNA xảy ra ở vùng khởi động gene (gene promoter) sẽ gây ức chế quá trình phiên mã. Sự methyl hóa DNA là cần thiết cho sự phát triển bình thường ở các loài động vật có vú và thường gắn liền với một số tiến trình quan trọng như in dấu hệ gene (genomic imprinting), bất hoạt nhiễm sắc thể X, sự lão hóa và sự sinh ung.

Sự methyl hóa xảy ra chủ yếu trên cytosine trong dinucleotide CG, hay còn gọi là CpG (5'-C-phosphate-G-3'), với ba pha: thiết lập (de novo), duy trì và khử methyl hóa.

1.1.1. De novo methyl hóa DNA

Methyl hóa cytosine xảy ra do tương tác giữa các DNA methyltransferases (DNMT3A, DNMT3B và DNMT3L) chuyển nhóm methyl của S-adenosyl-L-methionine sang vị trí carbon số 5 trên vòng pyrimidine của cytosine trong dinucleotide CpG để hình thành 5-methylcytosine (5mC).

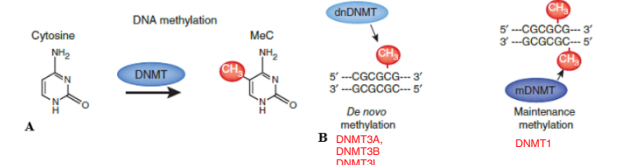
Trong chuỗi DNA người, chỉ khoảng 1,5% DNA có sự hiện diện của 5mC. Ở các tế bào sinh dưỡng, 5mC hầu như ở các dinucleotide CpG, ngoại trừ ở các tế bào mầm sinh dục có thể ghi nhận 5mC hiện diện ở các dinucleotide không phải CpG.

Sự methyl hóa có thể ảnh hưởng đến quá trình phiên mã của gene do ức chế sự gắn thêm các protein phiên mã vào gene, hoặc do gắn thêm nhóm protein methyl-CpG-binding domain (MBD), các MBD thu hút các protein khác như các enzyme khử acetyl của histone hay những protein tái cấu trúc chất nhiễm sắc (chromatin remodeling) gây ra biến đổi histone, hậu quả hình thành nên chất nhiễm sắc bất hoạt.

Hầu hết các vị trí CpG của chuỗi DNA đều bị methyl hóa, ngoại trừ các đảo CpG (vùng DNA dài hơn 200 bp và có dinucleotide CpG chiếm hơn 50%) trong các mô dòng mầm và các đảo CpG gần vùng khởi động gene ở các tế bào sinh dưỡng vẫn chưa bị methyl hóa. Điều này giúp cho biểu hiện gene vẫn bình thường. Chỉ khi đảo CpG gần vùng khởi động gene bị methyl hóa sẽ làm gián đoạn biểu hiện gene.

1.1.2. Duy trì methyl hóa DNA

Khác với DNMT3A và DNMT3B có vai trò trong de novo methyl hóa DNA, DNMT1 chỉ thực hiện methyl hóa trên DNA có 1 mạch đơn đã được methyl hóa. DNMT1 định vị ở chế ba sao chép DNA (replication fork) để gắn vào DNA mới tổng hợp và tiến hành methyl hóa y như kiểu methyl hóa trên bản DNA gốc trước khi hoàn tất nhân bản DNA. Ngoài ra DNMT1 cũng có khả năng sửa chữa lỗi trong quá trình methyl hóa DNA. Như vậy DNMT1 giúp duy trì kiểu methyl hóa DNA trong một dòng tế bào.



Hình 6.1.2. Sự methyl hóa DNA.
A. Methyl hóa DNA xảy ra ở base cytosine. B. Hai loại DNMTs trong methyl hóa DNA (Nguồn: Day JJ và cộng sự, 2010)

1.1.3. Khử methyl hóa DNA

Tiến trình loại nhóm methyl khỏi DNA là cần thiết cho quá trình khởi tạo thượng di truyền của gene và cũng trực

tiếp liên quan đến nhiều cơ chế bệnh sinh quan trọng như trong tiến triển của khối u.

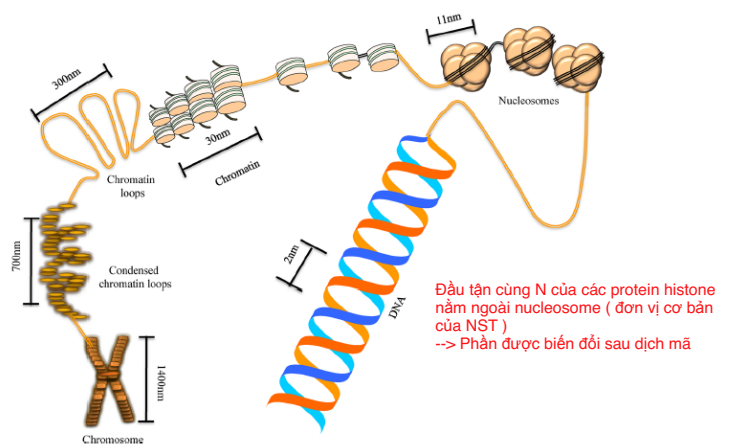
Khử methyl hóa có thể chủ động hay thụ động, hoặc kết hợp cả hai. Khử methyl hóa DNA thụ động diễn ra ở những tế bào đang phân chia. Ở những tế bào này, DNMT1 đóng vai trò duy trì methyl hóa DNA trong quá trình nhân bản DNA. Khi DNMT1 bị ức chế hoặc bị mất chức năng sẽ dẫn đến các cytosine mới chưa được methyl hóa tích hợp vào chuỗi DNA mới tổng hợp. Kết quả sẽ dẫn đến giảm lượng CpG được methyl hóa ở những lần phân bào sau.

Methyl hoá DNA: DNMT3A,3B,3L và DNMT1
Khử Methyl hoá DNA: Protein TET

Khử methyl hóa DNA chủ động có thể ở cả tế bào đang phân chia cũng như tế bào không phân chia, và để khử methyl cần những phản ứng enzyme của các protein TET để chuyển 5mC trở lại dạng cytosine nguyên bản.

1.2. Các biến đổi histone

Ở các tế bào có nhân, chuỗi DNA được đóng gói vào chất nhiễm sắc trong nhân. Nucleosome (đơn vị cấu tạo cơ bản của chất nhiễm sắc) bao gồm một đoạn DNA (147 bp) quấn hai lần quanh một bộ tám protein histone (hai phiên bản của mỗi loại H2A, H2B, H3 và H4). Các đầu N tận cùng của các protein histone vẫn còn ở ngoài nucleosome, và đây sẽ là những phần được biến đổi sau dịch mã. Hai nucleosome sẽ được nối với nhau bởi một đoạn DNA 20 bp qua tương tác với protein histone H1.



Hình 6.1.3. Nhiễm sắc thể cấu tạo từ DNA quấn quanh các histone (Nguồn: Gene Regulation, Epigenetics and Hormone Signaling, 2017)

Các biến đổi histone bao gồm acetyl hóa, methyl hóa, phosphoryl hóa, ubiquitination, SUMOylation và ADP-ribosylation. Các biến đổi histone không hoạt động đơn lẻ mà tương tác với nhau và với những cơ chế khác như methyl hóa DNA và những phân tử RNA không mã hóa.

Trong các loại biến đổi histone đã được mô tả, **acetyl hóa và methyl hóa** là những biến đổi đã được nghiên cứu nhiều và có liên quan về chức năng với điều hòa biểu hiện gene và cấu trúc chất nhiễm sắc.

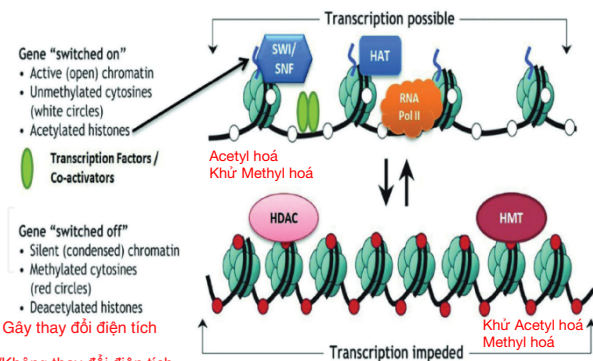
1.2.1. Acetyl hóa histone

Acetyl hóa histone xảy ra ở vị trí của lysine trên phần đuôi N của histone. Việc thêm nhóm acetyl vào lysine làm mất đặc tính tích điện dương của lysine, qua đó làm lỏng liên kết giữa histone và DNA. Kết quả là DNA dễ được các yếu tố phiên mã tiếp cận và tăng hoạt động phiên mã. Ngược lại, loại nhóm acetyl khỏi lysine sẽ tăng cường liên kết giữa histone và DNA, dẫn đến ức chế hoạt động phiên mã.

Acetyl hóa và khử acetyl hóa histone được duy trì cân bằng bởi các nhóm enzyme histone acetyl transferases (HATs) và histone deacetylases (HDACs).

1.2.2. Methyl hóa histone

Methyl hóa histone xảy ra ở vị trí của lysine và arginine. Methyl hóa histone có thể làm hoạt hóa gene hoặc ức chế gene tùy vào vị trí và mức độ methyl hóa trên nhóm amino của lysine (đơn, đôi hay tam), arginine (đơn hay đôi). Khác với acetyl hóa histone, methyl hóa không thay đổi tính tích điện của histone mà đóng vai trò thu hút các yếu tố hoạt hóa gene, ức chế gene hay điều hòa chất nhiễm sắc đến gắn vào bề mặt chất nhiễm sắc.



Hình 6.1.4. Hoạt động của gene được điều khiển qua trạng thái “đóng-mở” của chất nhiễm sắc (Nguồn: DNA repair, 2019)

1.3. Những phân tử RNA không mã hóa

Đây là những phân tử RNA chức năng được phiên mã từ DNA nhưng không dịch mã thành protein. Do vậy, các phân tử RNA không mã hóa chỉ đóng vai trò điều hòa biểu hiện gene ở mức độ phiên mã và hậu phiên mã.

Những phân tử RNA không mã hóa được xem như những yếu tố thượng di truyền có thể được chia thành hai nhóm chính: nhóm phân tử RNA không mã hóa có kích thước ngắn (< 30 nucleotides) và nhóm có kích thước dài (lncRNA, > 200 nts). Cả hai nhóm đều có vai trò trong hình thành vùng dị nhiễm sắc chất, biến đổi histone, methyl hóa DNA và ức chế gene.

Những phân tử RNA không mã hóa có kích thước ngắn gồm có 3 nhóm chính: microRNAs (miRNAs), RNA can thiệp kích thước ngắn (siRNAs), RNA kích thước ngắn tương tác protein piwi (piRNAs).

1.3.1. miRNAs

tiến trình điều hòa dịch mã cũng như lên mRNA

miRNAs là những phân tử RNA không mã hóa có kích thước khoảng 22 nucleotides, được hình thành từ các tiền miRNA đã được phiên mã từ DNA bởi RNA polymerase II. Các miRNAs kiểm soát biểu hiện của những gene mã hóa protein bằng cách làm mất chức năng của RNA thông tin (mRNA) hoặc cản trở dịch mã. Mỗi miRNAs có thể chi phối nhiều mRNA, qua đó có thể điều hòa lên đến 30% gene mã hóa protein và định dạng sự tạo protein từ hàng trăm đến hàng nghìn gene.

1.3.2. siRNAs

siRNAs cũng có chức năng tương tự miRNAs gây ngăn cản sau phiên mã bằng việc làm mất chức năng mRNA. Ngoài ra, siRNAs tham gia hình thành vùng dị nhiễm sắc chất bằng gắn với phức hợp RITS thúc đẩy methyl hóa histone H3 ở vị trí lysine K9 (H3K9) và cô đặc chất nhiễm sắc.

Hình thành vùng dị nhiễm sắc chất - Vai trò chung của RNA không mã hóa luôn

RITS + siRNA → Methyl hóa H3 (lysine 9)

1.3.3. piRNAs

piRNAs là những phân tử RNA tương tác với các protein piwi. piRNAs chủ yếu liên quan đến điều hòa chất nhiễm sắc và ức chế các hoạt động chuyển vị trong các tế bào sinh dưỡng và tế bào mầm.

2. lncRNAs

tiến trình điều hòa, biểu hiện gene

Tương tự như các gene mã hóa protein, hầu hết lncRNAs cũng được phiên mã bởi RNA polymerase II, gắn mũ ở đầu 5' và bổ sung chuỗi poly A vào đầu 3'. Các lncRNAs đóng vai trò quan trọng nhiều chức năng tế bào khác nhau như đóng gói chất nhiễm sắc, biểu hiện gene, điều hòa gene, tăng trưởng, chuyển hóa, biệt hóa và phát triển. Với những tiến bộ công nghệ về microarray và phân tích trình tự RNA, càng nhiều lncRNAs tiếp tục được phát hiện, tuy nhiên chức năng chuyên biệt cho mỗi lncRNAs vẫn cần được nghiên cứu thêm.

Thêm nhóm acetyl vào đuôi N của protein histone nằm ngoài nucleosome - tại vị trí của lysine

Thêm nhóm Methyl vào đuôi N của protein histone nằm ngoài nucleosome - tại vị trí của lysine và arginine

Acetyl hóa Histone/ Gây thay đổi điện tích của histone
Methyl hóa Histone/ Không thay đổi điện tích của histone → Thu hút yếu tố ức chế/ hoạt hóa gene/ điều hòa....

Không có chức năng tổng hợp protein, nhưng tác động lên dịch mã thông qua các gene và RNA khác

3. VAI TRÒ CỦA THƯỢNG DI TRUYỀN TRONG SỰ PHÁT TRIỂN PHÔI Ở GIAI ĐOẠN TIỀN LÀM TỔ

Tinh trùng và noãn trưởng thành cần những yếu tố thượng di truyền chuyên biệt và khác nhau trong sự hình thành giao tử. Bên cạnh việc in dấu hệ gene, ở **tinh trùng** còn có **sự thay thế các histone bởi protamine** (những protein cần thiết cho quá trình cô đặc chất liệu di truyền ở đầu tinh trùng và ổn định DNA), trái lại ở **noãn** mức độ **methyl hóa histone** H3 ở vị trí lysine K4 với 3 nhóm amino (H3K4me3) có thể **cao hơn** vì noãn đã tiến hành **giảm phân**. Những in dấu hệ gene từ bố mẹ trong quá trình sinh giao tử vẫn được giữ lại trong giao tử cũng như những dấu ấn khác. Tuy nhiên, một số dấu ấn sẽ được lập trình lại để đáp ứng nhu cầu hình thành các tế bào tổng năng. Để **đáp ứng nhu cầu phát triển**, các **dấu ấn thượng di truyền** cũng được **lập trình lại để giúp phôi thực hiện những biệt hóa**.

3.1. Methyl hóa DNA

Sau thụ tinh, trong phôi bào có sự hình thành tiền nhân đực và tiền nhân cái. Sự **khử methyl hóa DNA chủ động** sẽ diễn ra ở **tiền nhân đực**, và sau đó sẽ diễn ra sự **khử methyl hóa DNA thụ động** ở những **giai đoạn phân cắt phôi tiếp theo**. Phôi sẽ thực hiện quá trình biệt hóa đầu tiên với **de novo methyl hóa DNA**, nhằm **đảm bảo ức chế các gene liên quan đến việc duy trì tính vạn năng**. Mức độ **methyl hóa DNA** ở khối tế bào bên trong (**ICM**) của phôi nang **cao hơn** những **tế bào ngoại bì lá nuôi**. Điều này dẫn đến những biệt hóa khác nhau: các **ICM** sẽ **biệt hóa** thành những **đồng tế bào sinh dưỡng**, còn các **tế bào ngoại bì lá nuôi** sẽ hình thành **bánh nhau**.

Methyl hóa DNA là một sự kiện quan trọng và không thể thay thế trong giai đoạn tiền làm tổ. Quá trình methyl hóa DNA thực hiện những **thay đổi tổng thể** và cả những **thay đổi đặc hiệu** cho **từng vùng**. Đặc biệt, những tế bào biệt hóa trong cùng 1 phôi không cùng một phương thức biểu hiện của những gene liên quan đến quá trình methyl hóa. Điều này cho thấy tầm quan trọng của cấu trúc dữ liệu đặc hiệu từng tế bào đơn lẻ so với cấu trúc dữ liệu của toàn thể phôi.

3.2. Biến đổi histone

Sau khi thụ tinh, **tiền nhân cái** hình thành và có những biến đổi histone gồm **acetyl hóa lysine ở đuôi histone H4** (H4ac), **methyl hóa lysine ở các đuôi histone H3 và H4** như H3K4me, H3K9me2/3, H3K27me1, H4K20me3.

Những biến đổi histone này được ghi nhận có **liên hệ với tình trạng chất nhiễm sắc hoạt động hay bị ức chế**.

Trong khi đó, ở **tiền nhân đực**, các **protamine** dần bị thay bằng các histone được acetyl hóa. Tuy nhiên, các histone được acetyl hóa này sẽ lại được thay bằng các histone monomethyl hóa như H3K4me1, H3K9me1 và H3K27me1. Tiếp sau đó các dạng di- hay tri-methyl hóa sẽ xuất hiện.

Như vậy, các biến đổi histone thay đổi theo từng giai đoạn và đặc hiệu cho từng loại tế bào. Các **biến đổi histone** có vai trò như **công tắc “bật/tắt”** điều khiển biểu hiện gene khi cần. Ở **phôi nang**, các **ICM và ngoại bì lá nuôi có những biến đổi histone khác nhau**. Chẳng hạn như acetyl hóa H3K9 và methyl hóa histone ở vùng dị nhiễm sắc chất gặp ở ICM, trong khi đó H3K27me1/2/3 có thể gặp ở cả hai nhóm tế bào nhưng ưu thế ở ICM, còn H3K27me2/3 chỉ gặp ở ngoại bì lá nuôi. Như vậy, **mỗi nhóm tế bào ở ICM và ngoại bì lá nuôi có những nhóm yếu tố thượng di truyền khác nhau điều khiển biểu hiện gene chuyên biệt**.

Các biến đổi histone như acetyl hóa và khử acetyl hóa cũng liên quan đến tiến trình tái cấu trúc chất nhiễm sắc, qua đó giúp các yếu tố khác tiếp cận DNA.

3.3. Các RNA không mã hóa

microRNAs (miRNAs) là những phân tử RNA không mã hóa có kích thước ngắn (20-24 nt) điều hòa biểu hiện gene bằng cách **loại bỏ mRNA đích** hay **ngăn mRNA đích mã**. Từ khi miRNA đầu tiên, **lin-4**, được xác định có vai trò điều hòa tiến trình phát triển ấu trùng theo thời gian của *Caenorhabditis elegans*, các miRNAs bắt đầu được ghi nhận **có chức năng trong nhiều giai đoạn phát triển**, bao gồm **cả giai đoạn tiền làm tổ**.

Trong sinh tổng hợp miRNAs, **Dicer** (ribonuclease type III) có chức năng **phân cắt các tiền miRNAs** (pre-miRNAs) **thành các miRNA trưởng thành** và tham gia **hình thành phức hợp RISC** (RNA-induced silencing complex). RISC là **một phức hợp có nhiều protein** với các vai trò khác nhau như **helicase, exonuclease và Argonaut** (Ago). RISC có vai trò làm **thoái hóa mRNA** hoặc **ngăn mRNA đích mã**.

Khiếm khuyết Dicer gây chết phôi ở chuột do thiếu tế bào mầm và mất tiềm năng tăng trưởng. Ago2 là yếu tố cần thiết cho sự phát triển trong giai đoạn hoạt hóa gene ở noãn được thụ tinh (ZGA). Trong giai đoạn ZGA này, các sản phẩm phiên mã từ mẹ đều bị tiêu hủy. Điều này gợi ý

Lúc đầu thay Histone
-> protamine
Lúc sau đổi protamine
-> Histone bị acetyl
hóa -> Tiếp tục thay
bằng monomethyl hóa
-> Di,tri-methyl hóa
xuất hiện

Chức năng của
miRNA và RISC
(được tạo từ Dicer -
chức năng cắt tiền
miRNAs -> miRNA
trưởng thành, tham
gia hình thành RISC
MiRNAs và RISC -
thoái hóa mRNA,
ngăn mRNA đích mã

rằng các yếu tố liên quan đến RNA can thiệp (RNAi) có thể liên quan đến việc tiêu hủy này. Từ phân tích dữ liệu microarray trên 97 miRNAs đã cho thấy các miRNA có thể tham gia chính trong tiến trình xóa bỏ các thông tin từ mẹ ở giai đoạn ZGA. Trong giai đoạn hình thành phôi đầu, các miRNAs có thể liên quan đến sự kết dính tế bào. Ngoài ra, các miRNA cũng có thể đóng vai trò trong biệt hóa tế bào ở giai đoạn phôi nang, chẳng hạn như miR-290 và miR-295 đặc hiệu ở tế bào mầm phôi với vai trò điều trị tính vận năng của tế bào.

Ngoài các phân tử RNA không mã hóa có kích thước ngắn, các phân tử RNA không mã hóa có kích thước dài (lnc-RNAs) cũng có những vai trò riêng biệt trong sự phát triển. Trong giai đoạn tiền làm tổ, các lnc-RNAs có thể liên quan đến ức chế phiên mã gene và in dấu gene.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Epigenetics and Assisted Reproduction – An introductory guide, 1st edition. Các tác giả: Cristina Camprubí và Joan Blanco. Nhà xuất bản Taylor & Francis Group 2019.
2. Gene Regulation, Epigenetics and Hormone Signaling 1st edition. Tác giả: Subhrangsu S. Mandal. Nhà xuất bản Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA 2017.



Module Y học Sinh sản

© Quyền sở hữu trí tuệ thuộc về Module YHSS, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh.

Bài 2.

NHỮNG SẢN PHẨM CỦA LÁ NUÔI

Vương Thị Ngọc Lan

© Bộ môn Phụ Sản, Khoa Y, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

Bộ môn Phụ Sản, Khoa Y, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh, e-mail: lanvuong@ump.edu.vn.

Mục tiêu bài giảng

1. Hiểu được khái niệm DNA tự do của thai.
2. Ứng dụng của DNA tự do thai vào kỹ thuật chẩn đoán trước sinh không xâm lấn.
3. Hiểu được vai trò của các tác nhân sinh hóa bánh nhau như là chỉ báo của tình trạng thai kỳ và sức khỏe thai.
4. Hiểu được khái niệm chẩn đoán phôi tiền làm tổ.
5. Ứng dụng chẩn đoán phôi tiền làm tổ để tránh sinh con có bất thường di truyền từ ba mẹ.

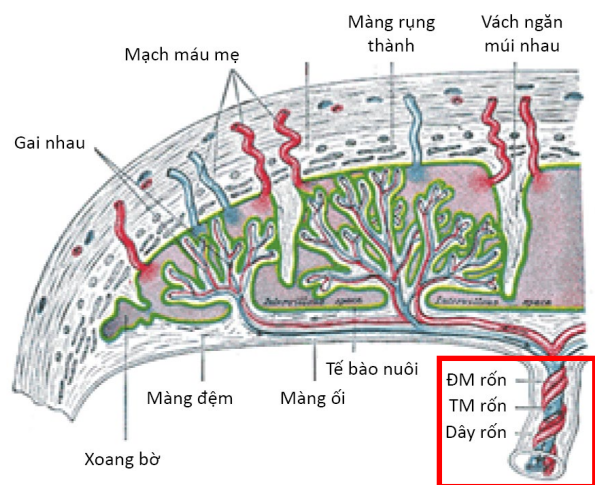
1. BÁNH NHAU VÀ LÁ NUÔI

Bánh nhau có vai trò là **trạm trung gian** giúp sự trao đổi chất từ mẹ sang con và ngược lại. Máu mẹ đổ từ các mạch máu ở thành tử cung vào các hố máu sau bánh nhau (gọi là **hồ máu**). **Mặt sau bánh nhau có các cấu trúc như các gai, nhúng vào các hồ máu này. Máu con sẽ lưu thông trong các gai nhau.**

Nhau thai được **tạo ra** một phần bởi **mô thai** (màng đệm có nhung mao) và một phần bởi **mô mẹ** (màng rụng nhau). Khoảng 2 tuần sau khi thụ tinh, các **tế bào nhau nguyên thủy** đã **hình thành** và **bắt đầu** hoạt động **chế tiết**. Tiếp sau đó, các tế bào nhau **tăng sinh** và **phát triển** và **hình thành** bánh nhau.

Lá nuôi là **lớp tế bào bao quanh** các **nhung mao đệm** thuộc về **mô thai**. **Sản phẩm của lá nuôi** gồm các **mảnh vỡ DNA ngoài tế bào** là vật liệu được sử dụng trong kỹ thuật **chẩn đoán trước sinh không xâm lấn** để **phát hiện** các **bất thường nhiễm sắc thể của thai**. Ngoài ra, **lớp ngoại bì của phôi nang** cũng là vật liệu cho **kỹ thuật chẩn**

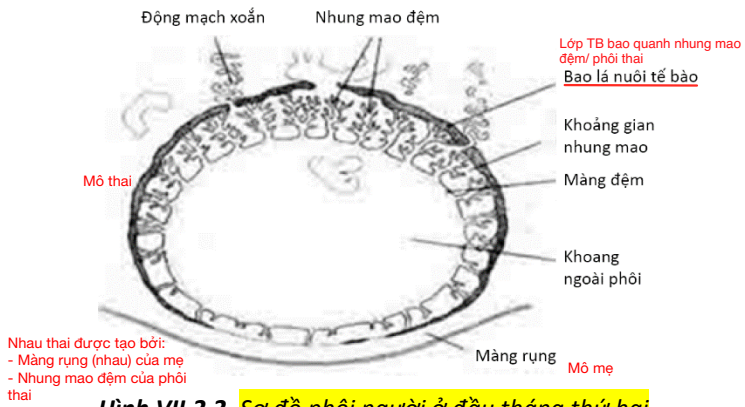
đoán di truyền tiền làm tổ để phát hiện các bất thường nhiễm sắc thể của phôi.



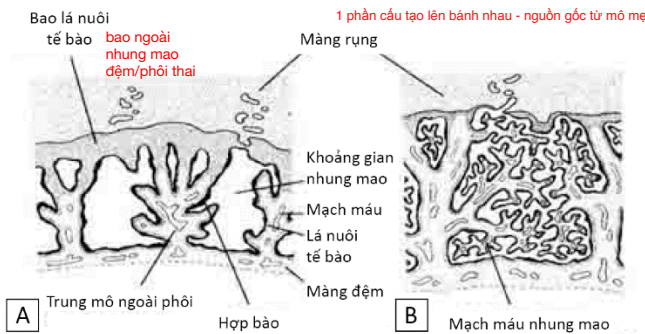
Hình VII.2.1. Cấu trúc bánh nhau.

Các hố máu ở sau bánh nhau (có các gai nhúng vào hồ máu này - lưu thông của máu con) nhận máu từ máu mẹ ở các mạch máu/ thành tử cung

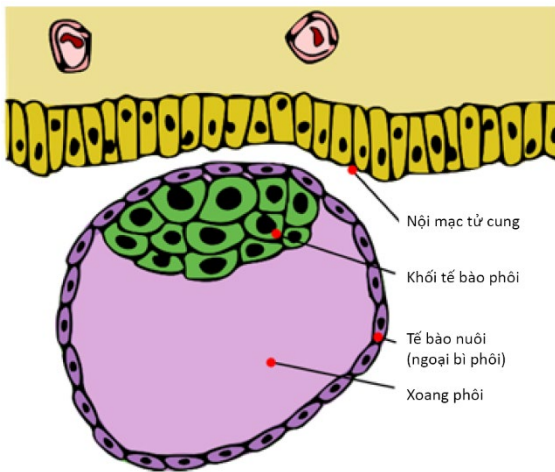
2 tuần sau thụ tinh, Hình thành TB nhau nguyên thủy --> Bánh nhau



Hình VII.2.2. Sơ đồ phôi người ở đầu tháng thứ hai.



Hình VII.2.3. Sơ đồ cấu trúc nhung mao ở các giai đoạn phát triển khác nhau. A: trong tuần thứ 4; B: trong tháng thứ 4.



Hình VII.2.4. Phôi nang ở thời điểm làm tổ vào nội mạc tử cung.

2. DNA TỰ DO CỦA THAI VÀ KIẾN THỨC CƠ BẢN VỀ CHẨN ĐOÁN TRƯỚC SINH KHÔNG XÂM LẤN

2.1. DNA tự do (cell-free DNA)

DNA ngoài tế bào hay DNA tự do là những mảnh vỡ phân tử của DNA (những đoạn ngắn DNA) được giải phóng vào huyết tương do quá trình chết tế bào theo chương trình của các hợp bào nuôi. là nuôi hợp bào

Huyết tương của một phụ nữ có thai chứa DNA ngoài tế bào có nguồn gốc từ mẹ và từ thai. Cả 2 thành phần này đều được phân tích trong kỹ thuật chẩn đoán trước sinh không xâm lấn.

Tỉ lệ DNA tự do có nguồn gốc từ thai trong huyết tương của mẹ được gọi là phân số DNA thai.

2.2. Thời điểm phát hiện DNA tự do thai trong máu mẹ

DNA tự do của thai nhi có thể được phân lập trong máu mẹ từ trong 5 tuần đầu vô kinh và gần như luôn luôn tìm thấy được vào tuần thứ 9 của thai kỳ.

Từ 10 tuần trở đi, DNA tự do thai nhi chiếm khoảng 3-13% tổng DNA tự do trong tuần hoàn của mẹ và tăng đến khoảng 10-15% tổng số DNA vào cuối tam cá nguyệt 1 và đầu tam cá nguyệt thứ 2.

Các yếu tố ảnh hưởng đến phân số DNA thai gồm tuổi thai, cân nặng của mẹ, kích thước bánh nhau, đơn thai hay song thai và có hiện diện của tam bội (trisomy). Mẹ càng béo phì thì phân số DNA thai càng giảm. Trisomy 21 có phân số DNA thai theo tuổi thai cao nhất, trisomy 13 và 18 có phân số DNA thai theo tuổi thai thấp hơn, thai có bộ nhiễm sắc thể bình thường có phân số DNA thai ở giữa của của trisomy 21 và trisomy 13,18.

DNA tự do thai nhi thanh thải nhanh trong máu mẹ. Thời gian bán hủy của DNA tự do thai là vài phút ở một người phụ nữ mang thai bình thường khỏe mạnh.

2.3. Phân biệt DNA tự do của thai với DNA của mẹ

Phân biệt DNA của thai nhi từ mẹ là rất quan trọng để chẩn đoán chính xác các bất thường nhiễm sắc thể trước sinh, tuy nhiên, không phải lúc nào cũng có thể làm được. Phương pháp đáng tin cậy nhất là xác định các đoạn DNA duy nhất cho nhiễm sắc thể Y vì phụ nữ bình thường không có nhiễm sắc thể Y. Cách tiếp cận khác là xác định các đoạn DNA liên quan đến di truyền từ cha vì các đoạn DNA này không có trong tuần hoàn mẹ. Ngoài ra, một số cách khác như xác định một đoạn DNA được methyl hóa khác nhau giữa mô của nhau thai so với mô của mẹ. Sự khác biệt về chiều dài đoạn DNA cũng được nghiên cứu, đoạn DNA của thai thường ngắn hơn của mẹ, tuy nhiên, điều này không đủ để khẳng định nguồn gốc của đoạn DNA từ mẹ hay thai.

2.4. Chẩn đoán trước sinh không xâm lấn là gì?

Sàng lọc và chẩn đoán trước sinh là các xét nghiệm về tình trạng thai trước khi bé được sinh ra để với mục đích phát hiện các dị tật bẩm sinh và các bất thường di truyền. Các

Không phải lúc nào cũng phân biệt được DNA tự do của thai nhi hay DNA tự do của mẹ

xét nghiệm có thể bao gồm các kỹ thuật không xâm lấn như sàng lọc huyết thanh và siêu âm, và các kỹ thuật xâm lấn như chọc ối hay sinh thiết gai nhau.

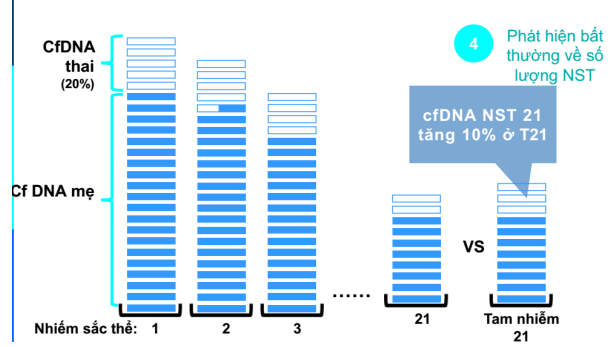
Xét nghiệm di truyền của thai nhi đòi hỏi các vật liệu di truyền từ thai. Để lấy các vật liệu di truyền từ thai, các kỹ thuật từ trước đến nay đều xâm lấn như chọc ối lấy các tế bào của thai nhi có nguồn gốc biểu mô hay sinh thiết gai nhau lấy các tế bào có nguồn gốc từ mô liên kết trung bì và các tế bào nuôi của nhau. Các kỹ thuật xâm lấn có nhiều nguy cơ, trong đó, khoảng 1% là sảy thai hoặc thai lưu.

Các kỹ thuật xét nghiệm trước sinh không xâm lấn (Non-invasive prenatal testing – NIPT) hay còn gọi là sàng lọc trước sinh không xâm lấn (Non-invasive prenatal screening – NIPS) là xét nghiệm di truyền khá mới, sử dụng các DNA tự do thai trong tuần hoàn mẹ để sàng lọc các lệch bội thường gặp của thai như trisomy 21 (hội chứng Down), trisomy 18 (hội chứng Edward), trisomy 13 (hội chứng Patau) và monosomy X (hội chứng Turner).

Năm 1997, Lo và cs. lần đầu tiên tìm thấy DNA tự do của NST Y trong máu thai phụ mang thai nam. Sau đó, các nhà nghiên cứu xác định được kiểu gen Rh (D) và xác định được nhiễm sắc thể giới tính đưa đến khả năng chẩn đoán giới tính và các bệnh di truyền liên quan đến giới tính như loạn dưỡng cơ Duchene hay Hemophillia. Năm 2011, NIPT chính thức được đưa vào áp dụng trong lâm sàng.

DNA nguồn gốc từ thai có thể tìm thấy trong tuần hoàn mẹ, có thể từ 2 nguồn: từ tế bào thai còn nguyên vẹn hay DNA tự do chủ yếu từ bánh nhau. Trong khi các tế bào thai nguyên vẹn có thể tồn tại nhiều năm sau sinh, DNA tự do thải ra khỏi máu mẹ rất nhanh, vài giờ sau sinh. Do đó, DNA tự do phát hiện trong máu mẹ trong thai kỳ là đại diện cho thai kỳ hiện tại.

Nguyên tắc sử dụng DNA tự do trong NIPT là DNA tự do thai được xác định và định lượng từ các nhiễm sắc thể khác nhau để phân biệt thai kỳ có nhiễm sắc thể lệch bội hay bình thường. Ví dụ thai có trisomy 21 sẽ có số DNA tự do của nhiễm sắc thể 21 tăng đáng kể so với thai kỳ bình thường.



Hình VII.2.5. NIPT chẩn đoán trisomy 21 do số lượng DNA tự do thai của nhiễm sắc thể 21 tăng 10%.

2.5. Ứng dụng của NIPT

Phát hiện các loại bất thường NST sau:

- **Dị bội phổ biến:** trisomy 21 (hội chứng Down), trisomy 18 (hội chứng Edwards), trisomy 13 (hội chứng Patau)
- **Nhiễm sắc thể giới tính:** xác định giới tính thai, các bất thường của nhiễm sắc thể giới tính như monosomy X (hội chứng Turner), dư nhiễm sắc thể X (hội chứng Klinefelter)
- Các dị bội khác như trisomy 9 và 16
- **Mất đoạn các nhiễm sắc thể nhỏ thông thường** gây ra các dị tật bẩm sinh như mất đoạn 22q11 (DiGeorge), mất đoạn 15q11 (Angelman/Prader-Willi), mất đoạn 1p36, 4p- (Wolf-Hirschhorn), mất đoạn 5p- (Cri-du-chat)

2.6. Giá trị của NIPT

- Phân biệt giữa xét nghiệm sàng lọc và chẩn đoán

	Test sàng lọc	Test chẩn đoán
Mục đích	Phát hiện nguy cơ mắc bệnh	Chẩn đoán sự hiện diện của bệnh
Độ nhạy và độ đặc hiệu	Thông thường nên chọn các xét nghiệm có độ nhạy cao để tránh bỏ sót bệnh, có thể có dương tính giả	Thông thường nên chọn các xét nghiệm có độ đặc hiệu cao
Bệnh nhân	Số lượng lớn, không triệu chứng, có nguy cơ cao mắc bệnh	Cá thể có chẩn đoán bệnh có thể có hay không có triệu chứng, dương tính với xét nghiệm sàng lọc
Phương pháp xét nghiệm	Đơn giản và dễ chấp nhận đối với bệnh nhân	Có thể xâm lấn và tốn kém. Sự chính xác của xét nghiệm quan trọng hơn sự chấp nhận của bệnh nhân
Chi phí	Thường rẻ tiền, thực hiện cho số lượng lớn dân số	Thường đắt tiền hơn để thiết lập chẩn đoán

Các TB trong quá trình
- Chọc ối: TB biểu mô
- Sinh thiết gai nhau: TB (lá nuôi) nhau, TB MLK trung bì

NIPT có đặc điểm của cả xét nghiệm sàng lọc và chẩn đoán, mặc dù hiện tại NIPT chủ yếu được xem như là xét nghiệm sàng lọc. Độ nhạy và độ đặc hiệu của NIPT được trình bày trong bảng:

			25 tuổi	40 tuổi
	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)	Giá trị tiên đoán dương (PPV, %)	Giá trị tiên đoán dương (PPV, %)
Trisomy 21	99,3	99,8	33	87
Trisomy 18	97,4	99,8	13	68
Trisomy 13	91,6	99,9	9	57
Dị bội NST giới tính	91,0	99,6	Tùy theo kiểu bất thường	--

Nguồn: ACOG, Committee Opinion number 640, 2016. Dựa trên tần suất dị bội ở thai 16 tuần. Giá trị tiên đoán âm (NPV) là 99% cho tất cả dân số bệnh nhân mà xét nghiệm có kết quả.

So sánh xét nghiệm NIPT với xét nghiệm sinh hóa và xét nghiệm di truyền xâm lấn.

	NIPT	Sinh hóa máu trong tam cá nguyệt 1	Sinh thiết gai nhau/ Chọc ối
Nguy cơ cho thai	Không	Không	Có, 0,5-1%
Phát hiện hội chứng Down	Cao (độ nhạy, hay dương tính thật là $\geq 99,5\%$ hay cao hơn)	Trung bình cao	Test chẩn đoán ($\geq 99,9\%$)
Tỉ lệ dương tính giả	Thấp (độ đặc hiệu, hay âm tính thật là $\geq 99,8\%$)	Trung bình	Test chẩn đoán ($\geq 99,9\%$)
Khả năng phát hiện các bất thường nhiễm sắc thể khác	13,18,21 (+/- X và Y) Những bất thường của các nhiễm sắc thể này chiếm khoảng 70% các bất thường lớn của nhiễm sắc thể	Mục tiêu để tầm soát trisomy 13,18,21	Có - Kỹ thuật NST đồ: phát hiện bất thường NST và các đoạn bất thường có kích thước 5-10 triệu cặp base DNA - Chromosome microarray: bất thường NST và các đoạn bất

			thường kích thước nhỏ hơn 250,000 cặp base DNA
--	--	--	--

Nguồn: ACOG, Committee Opinion number 640, 2016.

- Các yếu tố tác động đến kết quả của NIPT
 - Phân số DNA tự do thai: cần ít nhất là 4% để có kết quả tốt
 - Đa thai: độ chính xác của NIPT bị hạn chế
 - Thai có bộ NST thể khảm
 - Khảm khu trú ở bánh nhau
 - Mẹ bị ung thư
 - Mẹ bất thường nhiễm sắc thể
- Khuyến cáo của ACOG về NIPT được xem như là XN sàng lọc hơn
 - NIPT là xét nghiệm sàng lọc hiệu quả nhất để sàng lọc lệch bội ở thai phụ có nguy cơ cao của lệch bội
 - NIPT có thể là một chọn lựa như là xét nghiệm sàng lọc đầu tay cho các thai phụ có nguy cơ cao lệch bội
 - NIPT không nên khuyến cáo cho thai phụ có nguy cơ thấp lệch bội do chi phí – hiệu quả cao và không nên khuyến cáo cho thai phụ đa thai Độ chính xác của NIPT bị hạn chế bởi đa thai
 - Thai bất thường cấu trúc trên siêu âm cần được thực hiện xét nghiệm chẩn đoán, không thực hiện NIPT nữa NIPT là XN thiên hướng sàng lọc tốt hơn
 - NIPT không có kết quả (no call test result) cần được tư vấn di truyền, siêu âm và làm xét nghiệm chẩn đoán
 - Kết quả NIPT có bất thường thì cần được kiểm chứng bằng các xét nghiệm xâm lấn. Quyết định chấm dứt thai kỳ không nên chỉ dựa trên kết quả NIPT dương tính.
 - Kết quả NIPT âm không có nghĩa là đảm bảo thai nhi hoàn toàn bình thường

3. CÁC TÁC NHÂN SINH HÓA TỪ BÁNH NHAU LÀ CÁC CHỈ BÁO SINH HỌC HOẠT ĐỘNG CỦA BÁNH NHAU VÀ SỨC KHỎE THAI

Bánh nhau là một cơ quan đa chức năng, điều hòa chính sự duy trì của thai kỳ và phát triển của bào thai. Vì bánh nhau tiếp xúc trực tiếp với máu mẹ nên các sản phẩm của tế bào (DNA, RNA, proteins) từ bánh nhau có thể đi vào tuần hoàn mẹ bằng nhiều con đường khác nhau.

Sử dụng các DNA tự do của nhau và protein có nguồn gốc từ bánh nhau để chẩn đoán lệch bội đã được thiết lập.

Ngoài ra, việc sử dụng các chỉ báo sinh hóa để dự báo các bệnh lý của thai kỳ hay sức khỏe thai cũng đang được nghiên cứu. Các nghiên cứu gần đây tìm hiểu vai trò của các tác nhân sinh hóa từ bánh nhau trong chẩn đoán và phát hiện sớm tiền sản giật, thai chậm tăng trưởng trong tử cung hay các tình trạng viêm liên quan đến sinh non.

3.1. Bánh nhau là nguồn của các chất chỉ báo sinh hóa

Bánh nhau trưởng thành có một cấu trúc như một cây có giàu mạch máu. Gai nhau là đơn vị chức năng chịu trách nhiệm trao đổi oxygen giữa mẹ và thai. Các gai nhau gồm 3 lớp: 1) Hợp bào nuôi hay đơn bào nuôi bao phủ toàn bộ gai nhau, 2) Lớp đệm gồm các tế bào sợi, đại thực bào (tế bào Hofbauer) và các hồ máu, 3) Mạch máu của thai gồm tế bào cơ trơn mạch máu, tế bào ngoại vi mạch máu và nội mô mạch máu.

Lớp tế bào nuôi bên ngoài là nguồn của nhiều tác nhân sinh hóa từ nhau và nguồn của các chất nội tiết là các chỉ báo quan trọng của sự phát triển bánh nhau và sức khỏe thai. Các chất này bao gồm human chorionic gonadotropin (hCG), progesterone, human placental lactogen, vascular endothelial growth factor (VEGF), VEGF-receptor (FLT1), placental growth factor (PIGF).

3.2. Các chỉ báo sinh hóa từ bánh nhau gồm:

- Các chỉ báo gốc protein gồm: hCG, INHA, PAPPA, PIGF và sFLT1 đã được khảo sát rộng rãi như là các dự báo của kết cục xấu của thai kỳ.

PIGF, PAPPA

Dự báo tiền sản giật: dựa trên chỉ báo PIGF và PAPPA trong một mô hình kết hợp với các yếu tố nguy cơ từ mẹ như tuổi mẹ, béo phì, tình trạng tăng huyết áp, tiền sử gia đình và siêu âm Doppler đo lưu lượng máu vào động mạch tử cung.

CRP, CRH

Dự báo sinh non: dựa trên C-reactive protein, CRH, tỷ lệ neutrophil trên lympho bào và kháng thể kháng HLA. Chỉ báo sinh hóa của viêm như IL-6 trong dịch ối giúp tăng độ nhạy của các xét

- Các chỉ báo gốc DNA

DNA tự do thai từ nguồn gốc lá nuôi đã được sử dụng để sàng lọc lệch bội, nhầm sắc thể giới tính và yếu tố Rhesus. Ngoài ra DNA tự do nguồn gốc bánh nhau còn được ghi nhận tăng trong các bệnh lý tiền sản giật, thai chậm tăng trưởng trong tử cung và sinh non.

- Các chỉ báo gốc RNA

Tương tự như DNA tự do, các RNA chuyển mã từ bánh nhau hoạt động như chất truyền tin và là sản phẩm của quá trình chết tế bào có khả năng dự báo tình trạng thai kỳ. Các chất này thanh thải ra khỏi tuần hoàn mẹ nhanh

và có thể biểu hiện khác nhau giữa thai kỳ bình thường và thai kỳ có tiền sản giật sớm hay thai chậm tăng trưởng sớm. Ví dụ, IL1RL1 chuyển mã tăng khi có bệnh lý tiền sản giật. Yếu tố tiền viêm cytokine interleukin 1b tăng trong các thai phụ sinh non do viêm màng ối.

4. XÉT NGHIỆM DI TRUYỀN PHÔI TIỀN LÀM TỔ

Chẩn đoán phôi tiền làm tổ là kỹ thuật chẩn đoán di truyền của phôi trước khi chuyển phôi vào buồng tử cung người phụ nữ.

Một số tế bào ngoại bì của phôi thường được thu thập để thực hiện kỹ thuật chẩn đoán di truyền. Cần phân biệt 2 thuật ngữ:

- Chẩn đoán di truyền phôi tiền làm tổ (Pre-implantation genetic diagnosis – PGD): thực hiện khi ba hay mẹ đã có một loại bất thường di truyền biết trước. PGD giúp các cặp vợ chồng có những bất thường di truyền trong gia đình tránh được nguy cơ con cái họ gặp phải các bất thường tương tự. Các chỉ định của PGD gồm: ba mẹ có bệnh di truyền, tiền căn có con bất thường, ba mẹ mang gen bất thường, tiền căn gia đình mang gen bất thường.
- Sàng lọc di truyền phôi tiền làm tổ (Pre-implantation genetic screening – PGS): thực hiện khi ba hay mẹ không có một loại bất thường di truyền nào biết trước. Sàng lọc thường chỉ định cho các trường hợp có nguy cơ cao bất thường di truyền như mẹ trên 35 tuổi, sảy thai liên tiếp, thai lưu liên tiếp, thất bại làm tổ nhiều lần.

PGD/PGS tương tự như thụ tinh trong ống nghiệm (IVF), chỉ thêm một bước nữa là kiểm tra xem phôi có bị những bất thường nghiêm trọng về di truyền hay không.

4.1. Quy trình tiến hành PGD/PGS thường theo các bước sau:

Bước 1. Kích thích buồng trứng

Để tạo ra phôi để tiến hành phân tích di truyền, buồng trứng sẽ được kích thích bằng cách sử dụng các nội tiết ngoại sinh để khiến nhiều nang trứng cùng lớn lên một lúc. Bởi vì số lượng phôi của một cặp vợ chồng có ảnh hưởng bởi những bất thường di truyền hoặc nhiễm sắc thể, cần một lượng lớn phôi được tạo thành để có tỷ lệ thành công tốt nhất.

Bước 2. Chọc hút trứng

Khi đến **thời điểm thích hợp**, trứng sẽ được lấy ra khỏi buồng trứng bằng một thủ thuật gọi là **chọc hút trứng**. Sau khi được lấy ra bên ngoài, trứng sẽ được **đánh giá để xác định** trứng trưởng thành và có **hình ảnh bình thường**.

Bước 3. Thụ tinh/tiêm tinh trùng vào bào tương noãn

Quá trình thụ tinh có thể được tiến hành bằng hai phương pháp: **IVF** (tinh trùng và noãn được đặt cùng nhau trong một đĩa môi trường để quá trình thụ tinh xảy ra) hoặc **ICSI** (một tinh trùng duy nhất được tiêm vào vào tương noãn). Kỹ thuật này được sử dụng trong trường hợp **bất thường đơn gen**. ^{ICSI}

Bước 4. Thụ tinh

Buổi sáng sau khi thụ tinh/tiêm tinh trùng, chuyên viên phôi học sẽ **cẩn thận kiểm tra** xem có bao nhiêu trứng thụ tinh được.

Bước 5. Sinh thiết phôi

Những trứng thụ tinh thành công sẽ được **nuôi đến ngày 5 hoặc 6** đến khi phôi phát triển đến giai đoạn phôi nang, có khoảng **100-150 tế bào**. Tại thời điểm này, ngoại bì lá phôi (những tế bào sẽ hình thành nhau thai về sau) sẽ được lấy để làm **sinh thiết**. Kỹ thuật này sẽ được thực hiện bởi một chuyên gia có kinh nghiệm và phải được cấp phép bởi Human Fertilisation and Embryology Authority (HFEA). Quá trình lấy đi những tế bào này sẽ không gây hại đến phôi (Hình VII.2.6)



Hình VII.2.6. Xét nghiệm di truyền phôi.

Bước 6. Xét nghiệm di truyền phôi

Những tế bào sinh thiết này sẽ được **xét nghiệm để phát hiện** các bất thường di truyền. Có nhiều kỹ thuật xét nghiệm di truyền có thể áp dụng tùy theo kiểu bất thường di truyền muốn tìm.

Bước 7. Chuyển phôi

Chỉ những phôi không có bất thường di truyền mới được **phép chuyển** vào buồng tử cung. Thường thì mỗi lần sẽ chỉ chuyển một phôi để tránh nguy cơ đa thai.

Những phôi bình thường khác sẽ được **trữ đông** để **sử dụng** cho **những lần chuyển phôi sau**.

Những phôi có bất thường di truyền sẽ **bị hủy** hoặc sẽ được **hiến tặng cho nghiên cứu** nếu được **phép từ cặp vợ chồng** sở hữu.

Bước 8. Thử thai

Mười hai ngày sau khi chuyển phôi, người vợ sẽ tiến hành **thử thai**. Kết quả **thử thai dương tính** có nghĩa là **phôi đã làm tổ thành công**.

4.2. Chẩn đoán di truyền tiền làm tổ có thể đảm bảo trẻ sinh ra sẽ không bị bất thường di truyền hay không?

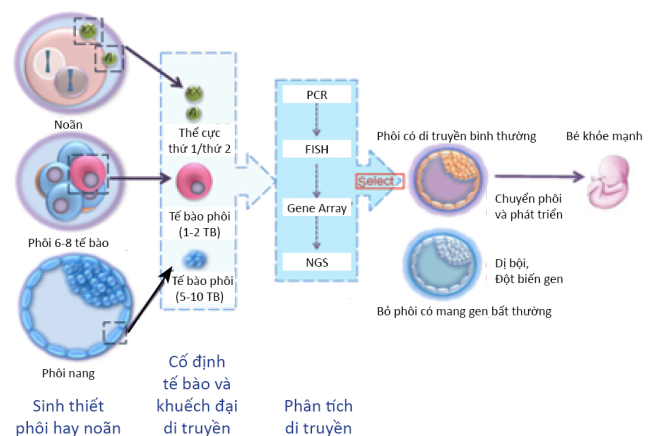
Độ chính xác của xét nghiệm

Độ chính xác của PGD sẽ dao động, có nghĩa là kết quả xét nghiệm không phải sẽ chính xác 100%. Tuy nhiên, độ chính xác của xét nghiệm dao động từ 98-99% ở hầu hết các cặp đôi. Nguy cơ sẽ phụ thuộc vào từng trường hợp bất thường cụ thể.

Tất cả bệnh nhân đều được đề xuất thực hiện xét nghiệm chẩn đoán tiền sản (chọc ối hoặc sinh thiết gai nhau) nếu có thai sau khi thực hiện PGD.

Tỷ lệ thụ thai

Rất khó để tính toán tỷ lệ thụ thai ở các trường hợp PGD vì còn ít số liệu. Thêm vào đó, những người tiến hành PDG hầu như đều nằm trong nhóm hiếm muộn, tỷ lệ thành công sẽ phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác, bao gồm **tuổi và cân nặng** của người phụ nữ.



Hình VII.2.7. Quy trình PGD/PGS.

	FISH	BOBs	Microarray	NGS
Công nghệ	DNA hybridization Công nghệ dựa vào <u>tín hiệu hình ảnh</u> Đoạn dò được lai trực tiếp lên tế bào cố định trên lam kính	DNA hybridization Công nghệ dựa vào <u>tín hiệu hình ảnh</u> Đoạn dò gắn trên hạt bead	DNA hybridization Công nghệ dựa vào <u>tín hiệu hình ảnh</u> Đoạn dò gắn trên bản lam kính	Sequencing Công nghệ dựa vào <u>số liệu về trình tự DNA</u>
Độ phân giải	1 probe/ 1 NST Tối đa 5-9 NST	90 probes cho toàn bộ 24 NST	3000 probes	3000 bin được đọc đi đọc lại hàng nghìn lần
Lượng DNA đầu vào	1 phôi bào nguyên vẹn	50ng	>100ng	1ng
Ảnh hưởng của hiệu suất lai	Cao	Có	Có	Không
Đột biến cấu trúc	Không	Rất hạn chế	Các đoạn đột biến có độ lớn >5Mb	Các đoạn đột biến có độ lớn >5Mb
Đột biến đơn gen	-	-	+	+
Sàng lọc lệch bội	+	+	+	+
Thẻ khám	+/-	+/-	+	++
Chi phí	\$	\$	\$\$\$	\$\$

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. The American College of Obstetricians and Gynaecologists. Committee Opinion Number 640, 2015. Cell-free DNA Screening for Fetal Aneuploidy.
2. Norton et al. Cell-free DNA analysis for Non-invasive Examination of Trisomy. The New England Journal of Medicine 2015; 372:1589-97
3. Manokhina et al. Review: placental biomarkers for assessing fetal health. Human Molecular Genetics 2017;26: R237–R245
4. Vermeesch JP et al. Prenatal and pre-implantation genetic diagnosis. Nature Reviews Genetics 2016; 17:643-656

BẤT THƯỜNG NHIỄM SẮC THỂ THAI NHI

LÝ DO

Bài giảng này sử dụng ca lâm sàng về một trường hợp thai kỳ có thai nhi bị lệch bội để giúp sinh viên dễ dàng nắm vững nội dung về bất thường nhiễm sắc thể, một trong những nguyên nhân gây ra những dị tật bẩm sinh như Hội chứng Down. Bài giảng này cũng sẽ giải thích cách sinh viên có thể ứng dụng kỹ thuật hỗ trợ sinh sản và chẩn đoán di truyền tiền làm tổ (PGD) để phát hiện các bất thường nhiễm sắc thể, từ đó tư vấn cho những cặp vợ chồng, những người có nguy cơ cao khi mang thai sẽ gặp những rối loạn di truyền.

MỤC TIÊU

1. Thảo luận những cơ chế gây ra hiện tượng lệch bội
2. Hiểu được quy luật di truyền của những bất thường nhiễm sắc thể
3. Ứng dụng những kiến thức về kỹ thuật hỗ trợ sinh sản và chẩn đoán di truyền tiền làm tổ để tư vấn cho các cặp vợ chồng nhằm tránh nguy cơ có một thai kỳ bất thường về nhiễm sắc thể.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Sinh viên nên tham khảo thêm những tài liệu sau trước khi đến lớp

Tiếng Việt

1. Bài giảng Sản khoa. BM Phụ Sản, Đại học Y Dược TPHCM
2. Bài giảng Phụ khoa BM Phụ Sản, Đại học Y Dược TPHCM

Tiếng Anh

1. Thompson & Thompson Genetics in Medicine.. Robert L. Nussbaum, Roderick R. McInnes, và Huntington F. Willard (eds). Elsevier, 8th edition, 2016.
2. Textbook of Assisted Reproductive Techniques. David K Gardner, Ariel Weissman, Colin N Howles and Zeev Shoham (eds). Informa Healthcare, England and Wales, 2nd edition, 2012.

Từ khoá: dị bội, chuyển đoạn, chẩn đoán di truyền tiền làm tổ, hội chứng Down

CA LÂM SÀNG

Bệnh nhân X., nữ, 35 tuổi, PARA 0020, đang mang thai với tuổi thai tính theo ngày kinh chót là 10 tuần 3 ngày, đến phòng khám của bạn để khám thai lần đầu. Chồng cô X năm nay 40 tuổi. Cách đây 8 tháng, cô X. đã từng có thai nhưng bị sảy. Cô cũng từng có một lần bỏ thai cách đây 12 năm. Những tiền căn khác của cô không còn điều gì đáng lưu ý. Về tiền căn gia đình, cô có một người em trai ruột và một người cậu ruột bên ngoại bị hội chứng Down. Người cậu ruột đã mất nhưng em trai của cô có kiểu hình điển hình của hội chứng Down.

Cô X. muốn biết thai kỳ này có nguy cơ hội chứng Down không.

Thăm khám cho thấy tử cung kích thước tương đương thai khoảng 10 tuần. Siêu âm xác nhận tuổi thai và cho biết trị số tim thai.

CÂU HỎI THẢO LUẬN

Câu 1: Nguy cơ hội chứng Down trong thai kỳ này của cô X phụ thuộc vào yếu tố nào?

- Tuổi cô X
- Tuổi chồng cô X
- Phụ thuộc vào nhiễm sắc thể đồ (karyotype) của cô X
- Phụ thuộc vào nhiễm sắc thể đồ của chồng cô X

THÔNG TIN TIẾP THEO

Cô X được khám, thực hiện các xét nghiệm chẩn đoán tiền sản, đồng thời cô cũng được thực hiện nhiễm sắc thể đồ. Chồng cô được hẹn để phân tích nhiễm sắc thể đồ do chồng không đi cùng với cô trong lần khám thai này. Năm ngày sau, kết quả nhiễm sắc thể đồ của cô X được trả về như sau: 45,XX,t(14;21)(q11;q11), có chuyển đoạn nhiễm sắc thể 14 và 21.

Cô X được thông báo là thai kỳ này có nguy cơ cao mắc hội chứng Down cũng như Trisomy 14 cao và đề nghị cô tiến hành sinh thiết gai nhau (CVS). Cô từ chối làm CVS vì cô nghe nói rằng nó có nguy cơ sảy thai cao hơn so với chọc ối. Vì vậy, cô muốn làm chọc ối lúc thai được 16 tuần.

Vào tuần tuổi thai thứ 16, cô X. trở lại phòng khám để tiến hành chọc ối. Khảo sát hình thái học của thai nhi trên siêu âm lúc này không thấy rõ do mẹ mập. Kết quả chọc ối cho biết thai nhi có bộ nhiễm sắc thể không cân bằng, gợi ý đến hội chứng Down.

Câu 2. Hãy giải thích cơ chế gây hội chứng Down cho thai nhi lần này?

- Thai nhi có thêm 1 nhiễm sắc thể 21 do bất thường phân ly nhiễm sắc thể ở giảm phân 1
- Thai nhi có thêm 1 nhiễm sắc thể 21 do bất thường phân ly nhiễm sắc thể ở giảm phân 2
- Số lượng nhiễm sắc thể của thai nhi là 46, do mẹ mang chuyển đoạn Robertson giữa nhiễm sắc thể 14 và 21
- Số lượng nhiễm sắc thể của thai nhi là 47, do mẹ mang chuyển đoạn Robertson giữa nhiễm sắc thể 14 và 21

THÔNG TIN TIẾP THEO

Cô X. được tư vấn và quyết định chấm dứt thai kỳ vì một đứa trẻ mắc hội chứng Down sẽ gặp phải nhiều vấn đề về sức khỏe và đòi hỏi phải được chăm sóc một cách đặc biệt suốt đời.

Một năm sau, cô X. quay lại phòng khám của bạn để được tư vấn để có một thai kỳ không gặp bất thường về di truyền.

Câu 3: Cô X. nên lựa chọn phương án nào dưới đây để tránh một thai kỳ có bất thường nhiễm sắc thể?

Liên quan đến hiến pháp, pháp lý

- Xin trứng từ em gái có bộ nhiễm sắc thể bình thường
- Xin phôi từ một cặp vợ chồng khỏe mạnh
- Thụ tinh ống nghiệm và thực hiện chẩn đoán di truyền tiền làm tổ
- Chẩn đoán di truyền trước sinh

Cho lấy tinh trùng hữu danh

Di sinh học là mẹ, mẹ sinh học là di. Khi trứng rời bỏ khỏi buồng trứng của Di thì không còn liên hệ với Di (như sau này)

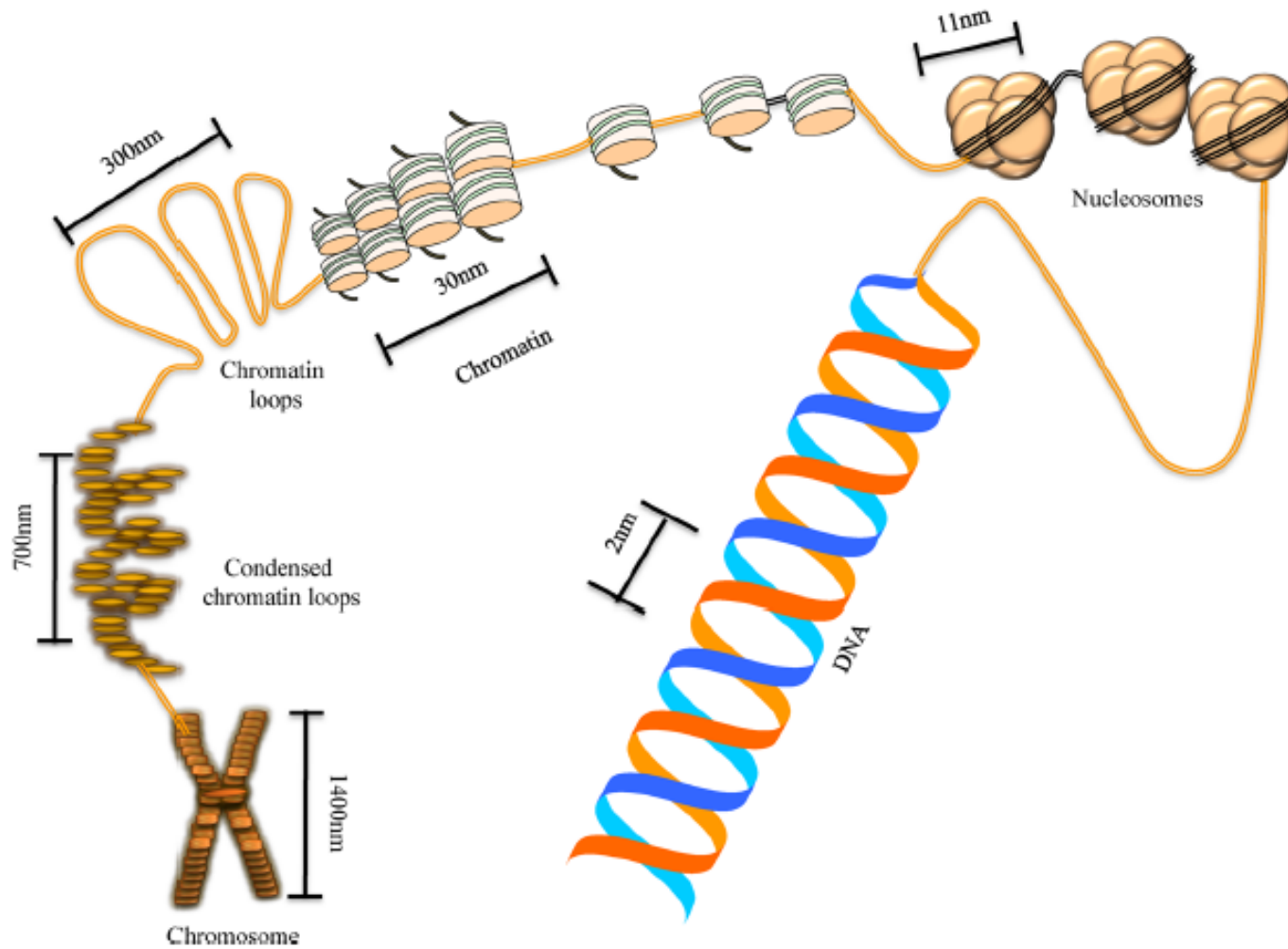
Không cho lấy tinh trùng hữu danh

không khác gì là con nuôi

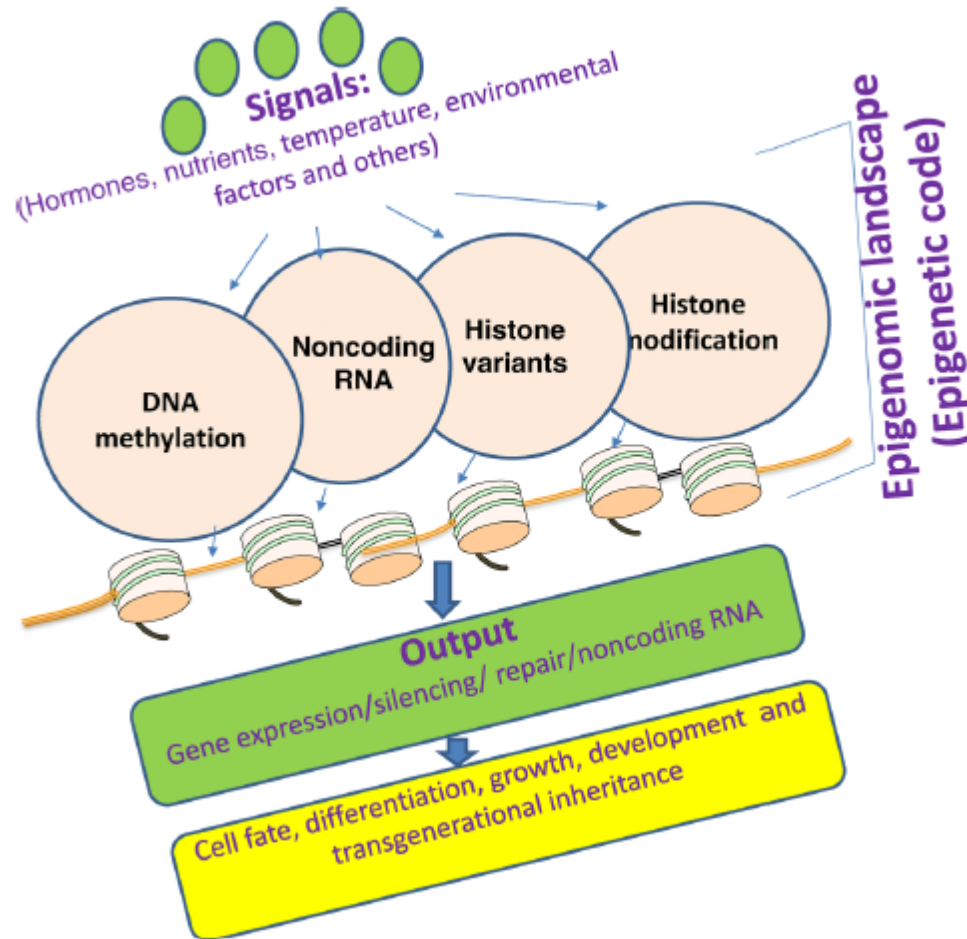
Chuyện đã rồi mà muốn làm thêm chuyện đã rồi
Đã biết khả năng cao rồi mà vẫn làm

SỰ PHÁT TRIỂN CỦA PHÔI GIAI ĐOẠN SỚM: VẤN ĐỀ THỪNG DI TRUYỀN

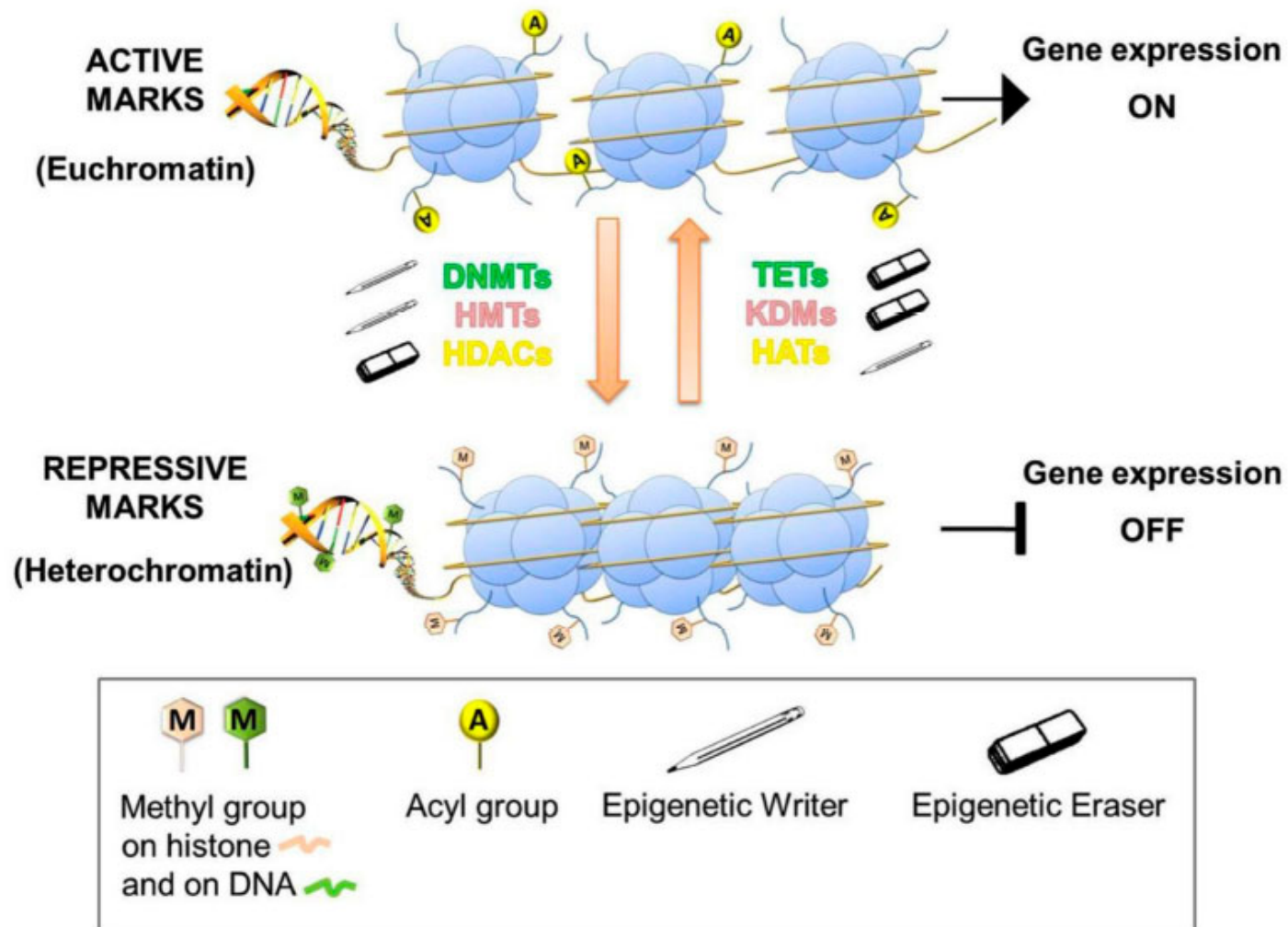
Nhiễm sắc thể cấu tạo từ sợi DNA quấn quanh các histones



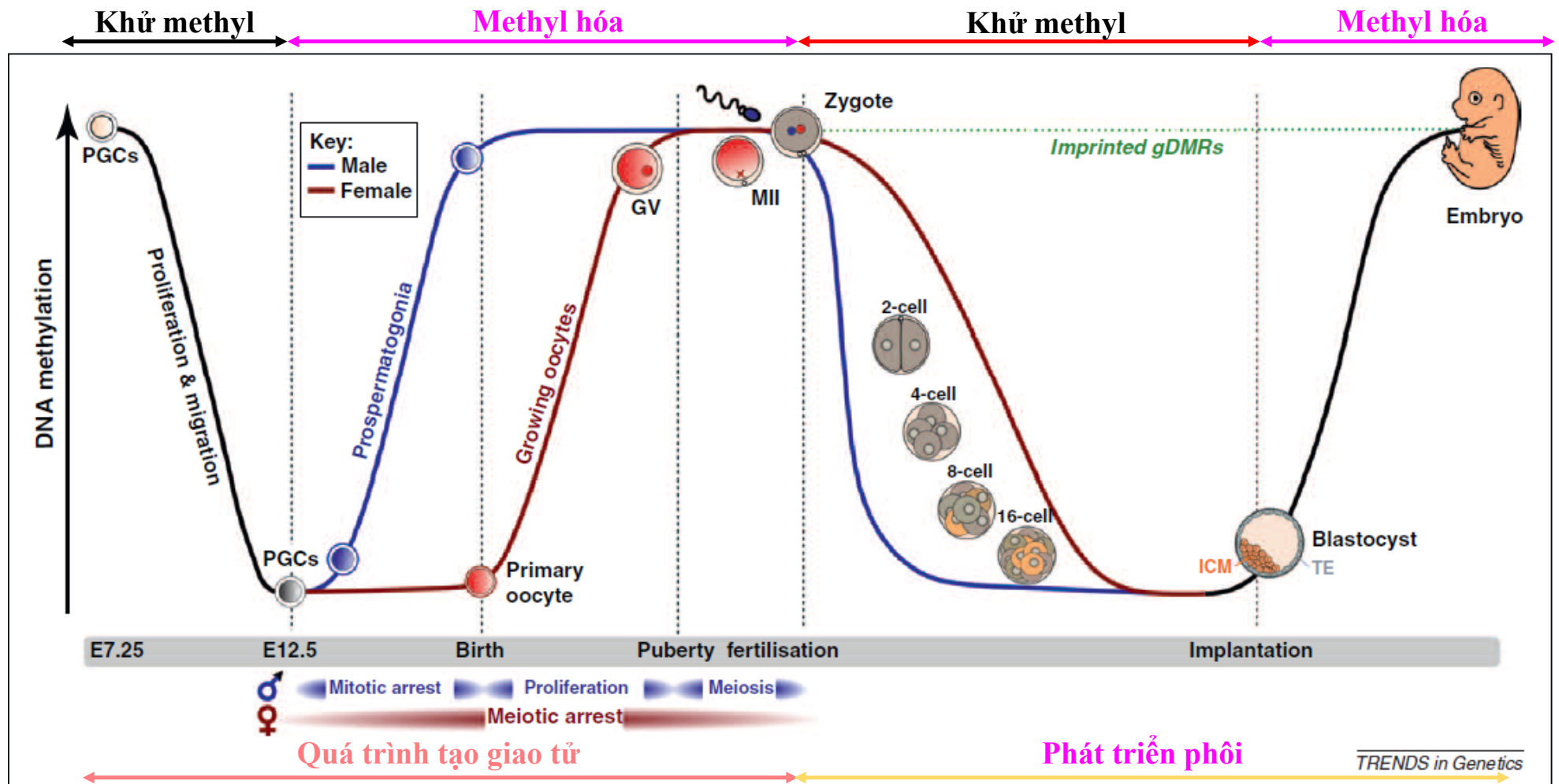
Các cơ chế phân tử thượng di truyền



Ảnh hưởng của methyl hóa DNA và biến đổi histones trên biểu hiện gene

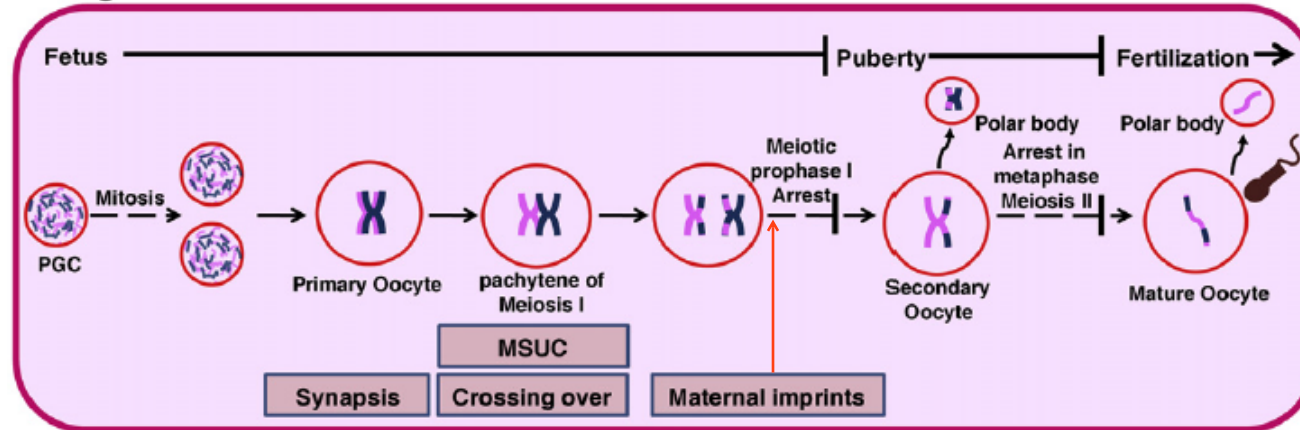


methy hóa / khử methy hóa DNA trong lập trình lại về thượng di truyền

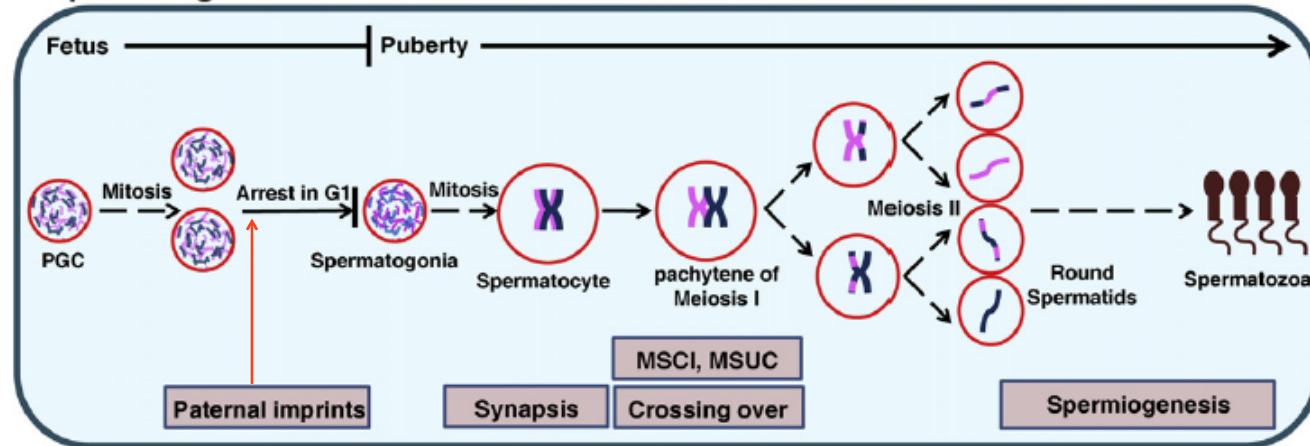


Thời điểm ấn thương di truyền được “imprint” trong quá trình tạo giao tử

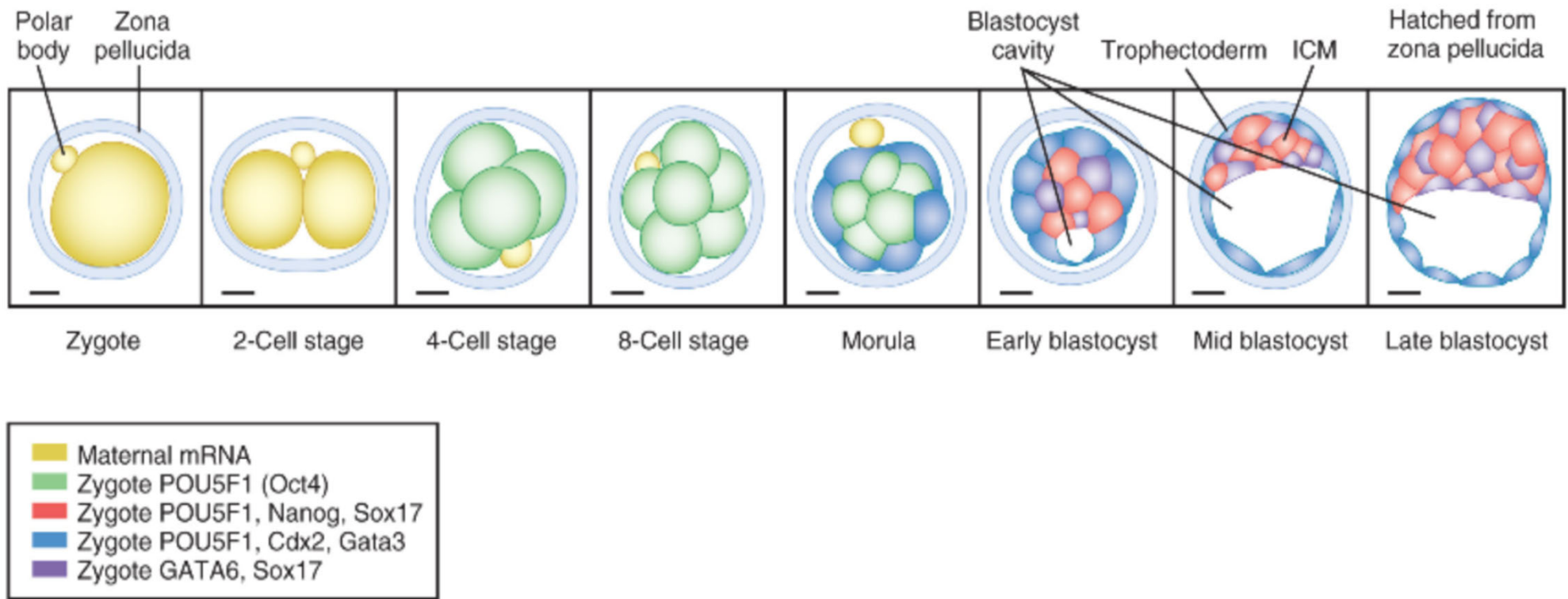
A Oogenesis



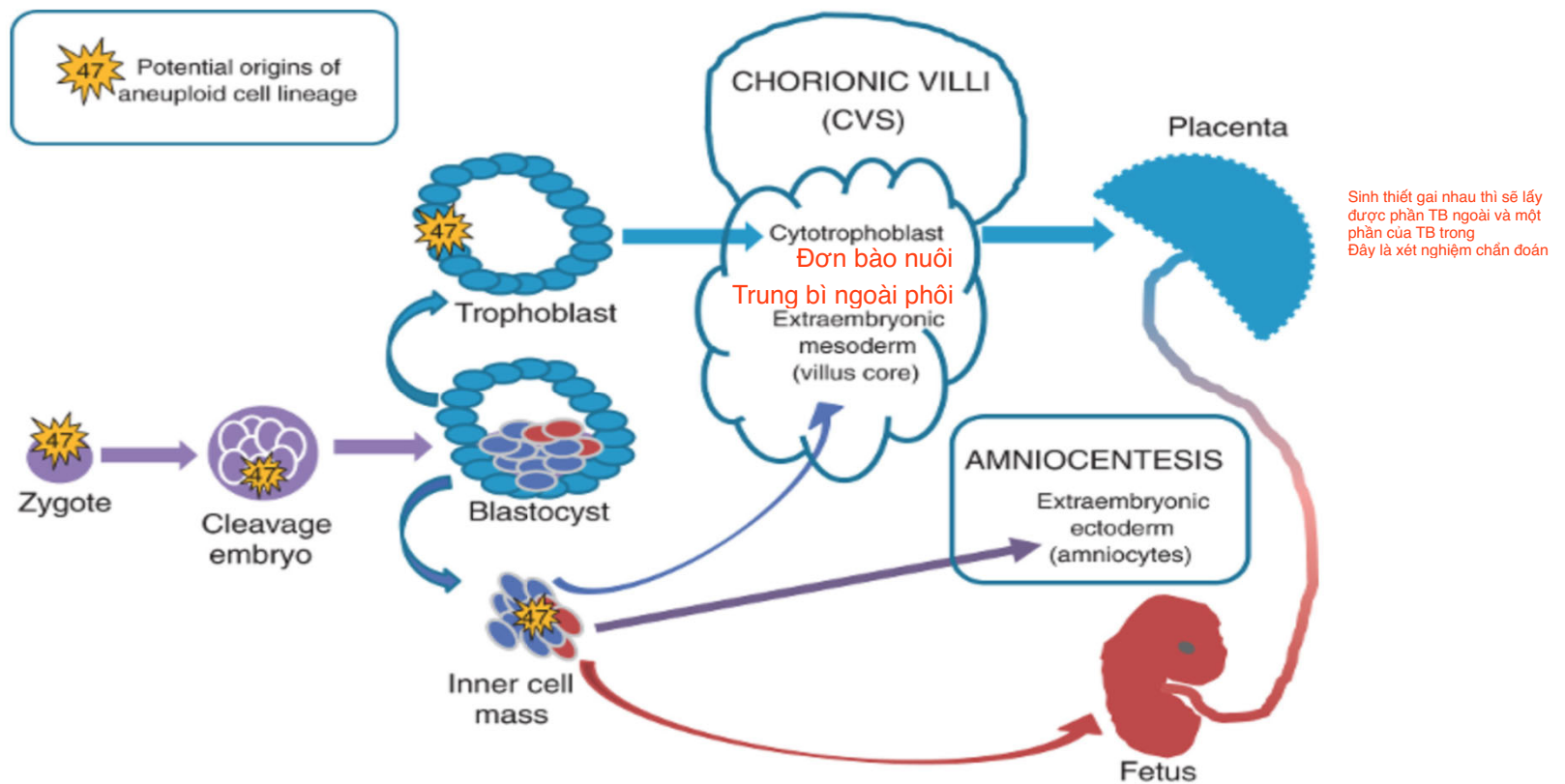
B Spermatogenesis

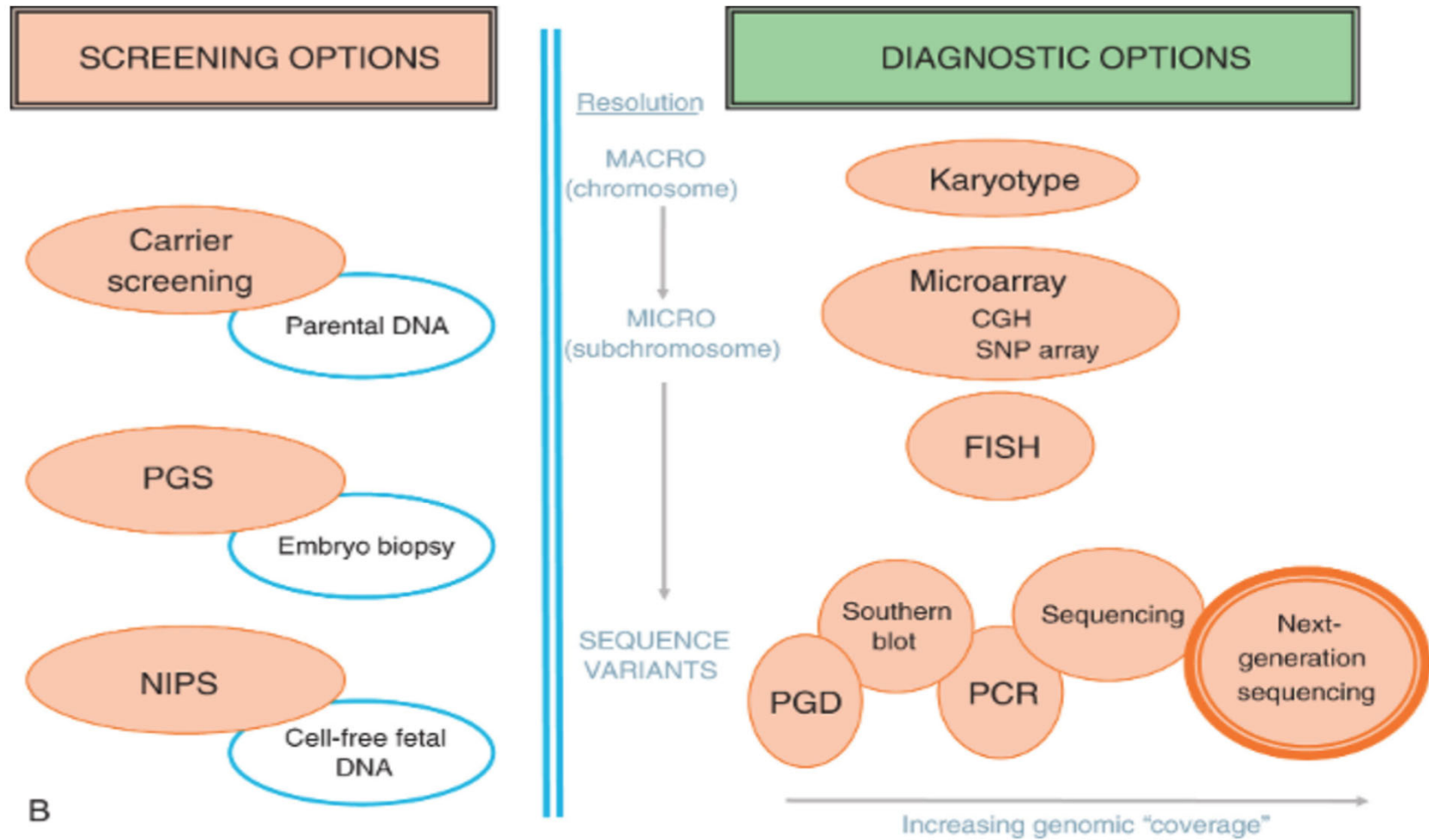


CÁC GIAI ĐOẠN CỦA PHÔI TIỀN LÀM TỔ



VỊ TRÍ LẤY MẪU CỦA TEST CHẨN ĐOÁN TRƯỚC SINH





QUY TRÌNH PGT

Khảo sát di truyền tiền làm tổ

