

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC VINH**

-----oOo-----



**TIỂU LUẬN  
MÔN: CHẨN ĐOÁN PHÂN TỬ**

**CHẨN ĐOÁN MỘT SỐ BỆNH  
TRƯỚC SINH THƯỜNG GẶP**

**HỌC VIÊN: HOÀNG NGỌC ANH**

**MÃ SỐ: 21842011410002**

**LỚP: SHTN K29**

**KHÓA: K29**

**NGÀNH: SHTN**

**GIẢNG VIÊN: TS. NGUYỄN BÁ HOÀNH**

**NGHỆ AN - 9/2021**

# MỤC LỤC

<b>PHẦN I. MỞ ĐẦU</b> .....	1
<b>1. Lý do chọn chuyên đề</b> .....	1
<b>2. Mục tiêu</b> .....	2
<b>3. Phương pháp nghiên cứu</b> .....	2
<b>PHẦN 2. NỘI DUNG</b> .....	3
<b>2.1. Các rối loạn nhiễm sắc thể thường gặp</b> .....	3
2.1.1. Hội chứng Down.....	3
2.1.2. Hội chứng Edwards .....	4
2.1.3. Hội chứng Patau.....	5
<b>2.2. Các rối loạn nhiễm sắc thể giới tính</b> .....	6
2.2.1. Hội chứng Turner .....	6
2.2.2. Hội chứng Klinefelter .....	6
2.2.3. Hội chứng 47, XYY .....	7
2.2.4. Hội chứng triplo X.....	7
<b>2.3. Các phương pháp tầm soát dị tật bẩm sinh trong ba tháng đầu thai kỳ</b> .....	7
2.3.1. Dựa trên yếu tố tuổi mẹ .....	7
2.3.2. Siêu âm đo khoảng mờ gáy ( <i>Nuchal Translucency</i> ) .....	8
2.3.3. Xét nghiệm <i>double test</i> .....	8
2.3.4. Xét Nghiệm <i>Triple test</i> .....	9
2.3.5 <i>NIPT (Non-Invasive prenatal testing)</i> .....	9
<b>2.4. Các phương pháp lấy mẫu trong chẩn đoán trước sinh</b> .....	10
2.4.1. Chọc hút dịch ối .....	10
2.4.2. Sinh thiết gai nhau.....	11
2.4.3. Sinh thiết mô thai và nội soi thai.....	12
2.4.4. Chọc hút máu cuống rốn.....	12
<b>2.5. Các kỹ thuật chẩn đoán rối loạn nhiễm sắc thể thông dụng hiện nay</b> .....	13
2.5.1. Kỹ thuật <i>karyotype</i> .....	13
2.5.2. Kỹ thuật <i>QF-PCR</i> .....	13
2.5.3. Kỹ thuật <i>Array CGH</i> .....	14
2.5.4. Kỹ thuật lai tại chỗ phát huỳnh quang.....	14
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO</b> .....	1

## PHẦN I. MỞ ĐẦU

### 1. Lý do chọn chuyên đề

Trẻ có rối loạn nhiễm sắc thể (NST) thường bị đa dị tật, chậm phát triển tâm thần vận động, bất thường cơ quan sinh dục, vô sinh. Các bất thường NST gặp ở trẻ sinh ra sống hầu hết liên quan đến NST 21, 18, 13 và các NST giới tính. Lệch bội NST 21, 18, 13, X và Y chiếm đến 90% các bất thường về lệch bội và chiếm 65% trong tổng các bất thường NST. Các dị tật này lại không điều trị được nên cách duy nhất là tầm soát và chẩn đoán trước sinh nhằm tư vấn cho thai phụ để có biện pháp cần thiết, kịp thời giúp giảm tỉ lệ những trẻ bệnh tật này được sinh ra. Từ năm 1966, kỹ thuật karyotype ra đời nhằm phát hiện các bất thường về cấu trúc, số lượng bộ NST và được xem là tiêu chuẩn vàng trong chẩn đoán trước sinh.

Tuy nhiên hạn chế của kỹ thuật này là thời gian trả kết quả dài, từ 14 - 21 ngày nên một số phương pháp chẩn đoán nhanh ra đời nhằm khắc phục nhược điểm này như kỹ thuật FISH (Fluorescence in situ Hybridization), MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification), QF-PCR (Quantitative Fluorescence Polymerase Chain Reaction). Trong đó thì kỹ thuật QF-PCR có ưu điểm vượt trội là có thể tự động hóa cùng lúc nhiều mẫu, tốn ít nhân công lao động, chi phí xét nghiệm thấp và thời gian trả kết quả nhanh, chỉ từ 24 - 36 giờ kể từ lúc nhận mẫu.

Từ năm 1993, QF-PCR đã được ứng dụng vào chẩn đoán nhanh lệch bội một số NST chọn lọc. Ở Việt Nam, quy trình sàng lọc trước sinh qua siêu âm, xét nghiệm máu và chẩn đoán các bất thường NST qua chọc hút ối vào ba tháng giữa thai kỳ đã được triển khai tại nhiều Bệnh viện.

Chẩn đoán sớm vào giai đoạn đầu thai kỳ không những giúp ích cho tâm lý của thai phụ và người nhà khi chờ đợi kết quả mà còn đảm bảo an toàn cho sức khỏe của người mẹ trong trường hợp phải chấm dứt thai kỳ. Ngoài ra, việc triển khai sàng lọc máu mẹ và đo khoảng sáng sau gáy ở ba tháng đầu thai kỳ trong tầm soát các bất thường để sàng lọc các nhóm thai phụ có thai kỳ nguy cơ cao tạo tiền đề cho việc chẩn đoán xác định các bất thường vào giai đoạn sớm. Nhằm mang

lại tiện ích cho thai phụ và gia đình, thu ngắn thời gian chờ đợi kết quả và cho phép chấm dứt thai kỳ ở thời điểm an toàn và kín đáo, để hiểu thêm về các bất thường thai nhi thường gặp chúng tôi chọn chuyên đề ***“Chẩn đoán một số bệnh trước sinh thường gặp”*** để làm chuyên đề tiểu luận

## **2. Mục tiêu**

- Tìm hiểu một số bất thường trước sinh thường gặp.
- Tìm hiểu một số phương pháp thăm dò các bất thường trên.

## **3. Phương pháp nghiên cứu**

Thu thập, nghiên cứu các tài liệu, sách báo và các trang web có liên quan đến các bất thường bẩm sinh thường gặp và các phương pháp thăm dò chẩn đoán các bất thường trước sinh trên.

## PHẦN 2. NỘI DUNG

### 2.1. Các rối loạn nhiễm sắc thể thường gặp

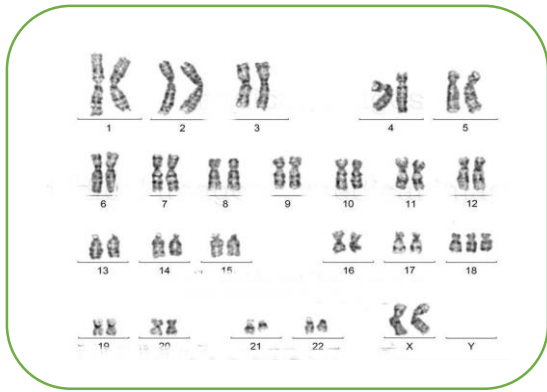
#### 2.1.1. Hội chứng Down

Hội chứng Down được bác sĩ người Anh – John Langdon Haydon Down mô tả lần đầu vào năm 1866. Đây là một loạt bệnh lý liên quan đến hiện tượng rối loạn thừa một hoặc một đoạn NST thứ 21 ở người. Hội chứng (HC) này thường gặp nhất trong số các bệnh do rối loạn NST, cứ 800 - 1000 trẻ sinh ra thì có 1 trẻ bị HC Down. Các trẻ mắc HC Down thường có chung một số đặc điểm hình thái như mặt dẹt, mắt xếch, tai nhỏ, rãnh khỉ (là rãnh ngang liên tục ở lòng bàn tay), lưỡi dày và dài, cổ ngắn. Trẻ thường chậm phát triển về thể chất và tâm thần vận động. Trẻ bị HC Down thường kèm theo các bất thường bẩm sinh khác, trong đó dị tật bẩm sinh tim là phổ biến nhất như thông liên thất, còn ống động mạch, tứ chứng Fallot. Ngoài ra còn có các dị tật về thính giác, thị giác, rối loạn tuyến giáp, bất thường về tiêu hóa, động kinh, các vấn đề về hô hấp, béo phì, dễ bị nhiễm trùng và ung thư bạch huyết. Nguyên nhân di truyền gây ra HC Down được các nhà khoa học tìm ra vào năm 1959. Bình thường thai được thừa hưởng vật chất di truyền gồm 46 NST, trong đó có 23 NST từ mẹ và 23 NST từ cha. Hầu hết các trường hợp Down có 47 NST do thừa một NST 21. Chính sự dư thừa vật chất di truyền này gây nên các rối loạn về thể chất và trí khôn của trẻ. 95% người mắc HC Down do rối loạn phân chia giao tử ở cơ thể bố mẹ bình thường dẫn đến tế bào trứng hoặc tinh trùng thừa một NST 21. Bên cạnh đó, 3 - 4% là HC Down khảm - cơ thể gồm các tế bào mang ba NST 21 và các tế bào mang hai NST 21. Cơ chế xảy ra có thể do trứng hoặc tinh trùng thừa một NST 21 kết hợp với nhau tạo hợp tử bất thường, sau đó các hợp tử này tiếp tục phân chia bất thường tạo thành các dòng tế bào có hai NST 21 và các dòng tế bào có ba NST 21. Hoặc có thể do trứng và tinh trùng bình thường tạo hợp tử bình thường, sau đó do rối loạn trong quá trình phân chia tạo các tế bào có một, hai hoặc ba NST 21. Tuy nhiên chỉ có các tế bào chứa hai và ba NST 21 tiếp tục phân chia bình thường tạo thành cơ thể dạng Down khảm. Ngoài ra còn có HC Down do chuyển đoạn chiếm 1 -

2% do nhà khoa học Mỹ W. R. B. Robertson phát hiện ra vào năm 1961. Nguyên nhân do hiện tượng chuyển đoạn trong phân bào giảm nhiễm tạo giao tử dẫn đến tình trạng cánh dài của NST 21 chuyển đoạn gắn vào cánh dài của NST 14. Sau đó giao tử thừa một đoạn NST 21 kết hợp với giao tử bình thường sẽ phát triển thành cơ thể mang bệnh Down chuyển đoạn. Các trường hợp này được gọi là trisomy một phần.

### **2.1.2. Hội chứng Edwards**

HC Edwards lần đầu tiên được nhà di truyền y học người Anh Edwards và cộng sự mô tả vào năm 1960. Đây là bệnh do bất thường NST thường gặp thứ hai sau HC Down. Tần số xuất hiện của bệnh vào khoảng 1/3000 lần sinh. Các biểu hiện lâm sàng ở HC này rất đa dạng. Cấu tạo mặt và hệ thống cơ xương bị tổn thương, vành tai bị biến dạng, xẻ môi, dị tật chi. Các bất thường ở tim và mạch máu chiếm tới 90,8% các trường hợp, thường là các tổn thương ở vách liên thất và van tim. Ngoài ra, bệnh nhân cũng gặp những dị tật bẩm sinh ở hàng loạt các cơ quan khác như: hệ thần kinh, tiêu hóa, hô hấp, bài tiết, sinh dục... Do có nhiều dị tật ở nhiều hệ thống cơ quan nên thời gian sống của các trẻ HC Edwards không lâu, có tới 60% các trường hợp chết trước 3 tháng tuổi, chỉ 10% trẻ sống được đến 1 tuổi. Cơ sở di truyền tế bào chủ yếu của HC này là do trong nhân các tế bào của cơ thể người bệnh thừa ra một NST 18. Nguyên nhân là do trong quá trình phát sinh giao tử ở bố hoặc mẹ cặp NST 18 không được phân ly tạo nên các tinh trùng hoặc tế bào trứng thừa một NST 18, khi tế bào sinh dục bất thường thụ tinh với tế bào sinh dục bình thường sẽ tạo nên hợp tử có bộ NST bất thường. Trường hợp tồn tại ba NST 18 trong tất cả các tế bào cơ thể chiếm đến 95%, 5% còn lại là thể khảm hoặc các thể phối hợp khác như lệch bội kép, chuyển đoạn.



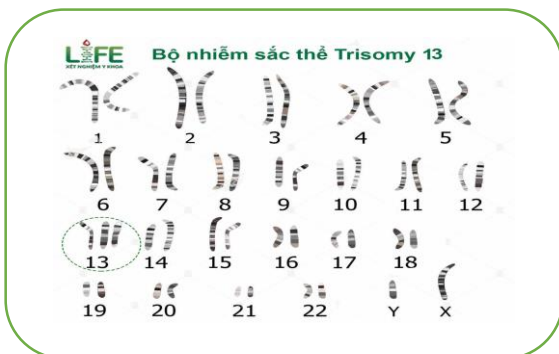
Bộ NST HC Edwards



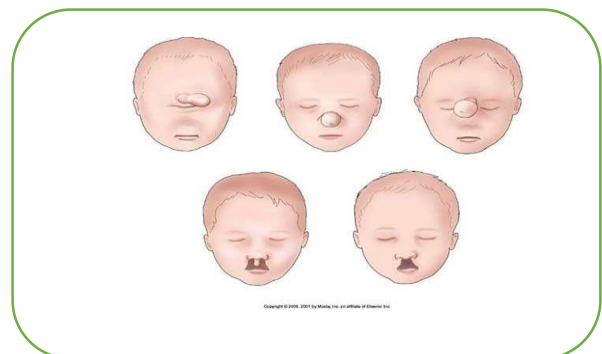
Khe hở cột sống HC Edwards

### 2.1.3. Hội chứng Patau

HC Patau được quan sát lần đầu tiên vào năm 1957 bởi Erasmus Bartholin nhưng mãi đến năm 1960 mới được bác sĩ Klaus Patau cùng cộng sự mô tả đầy đủ. Tần số xuất hiện của bệnh vào khoảng 1/10.000 lần sinh. Trên 95% trường hợp thai HC này bị sảy ngẫu nhiên trong thai kỳ. Đặc điểm kiểu hình của HC Patau bao gồm dị tật chi, đầu nhỏ, não trước không phát triển, khuôn mặt bất thường như mắt nhỏ, mũi dị dạng, hở vòm miệng. Đa số các trẻ bị tổn thương hệ thống thần kinh, các dị tật khác như dị tật tim chiếm 80%, dị tật hệ thống bài tiết (trên 60%) và ở cơ quan sinh sản (75%). Do có quá nhiều dị tật nặng nề, những trẻ tam thể 13 không sống được lâu, 90% bệnh nhân bị chết trong vòng 1 tuổi. HC Patau phát sinh chủ yếu do hai dạng đột biến do hậu quả của sự không phân ly của cặp NST 13 khi phát sinh giao tử ở cha hoặc mẹ. Các giao tử bất thường khi thụ tinh với các giao tử bình thường sẽ tạo nên các hợp tử bất thường chứa ba NST 13, trường hợp này chiếm đến 90%. 10% bất thường còn lại là do thể khảm hoặc chuyển đoạn t(13q;14q).



Bộ NST Hội chứng Patau



Lâm sàng HC Patau

## 2.2. Các rối loạn nhiễm sắc thể giới tính

### 2.2.1. Hội chứng Turner

HC Turner (monosomy X – 45,XO) là rối loạn NST giới tính phổ biến, gây ra một loạt các bất thường kiểu hình ở người nữ. Bệnh được Henry Turner mô tả vào năm 1938. Các bất thường này là hậu quả thiếu hụt gen của cặp NST giới tính do thiếu hoàn toàn hoặc một phần NST giới tính X hoặc Y. Monosomy X có tỷ lệ cao chết ở giai đoạn phôi thai (98 - 99%), chỉ một số nhỏ sống đến khi sinh và tần suất gặp khoảng 1/3000 bé gái sơ sinh. Tùy thuộc vào số lượng gen thiếu hụt mà biểu hiện của bệnh nhân HC Turner rất đa dạng. Bất thường hình thái điển hình là lùn, tóc mọc thấp, cổ ngắn, nếp da thừa ở cổ, biến dạng xương chi... Nguyên nhân chính gây ảnh hưởng nặng nề đến sức khỏe và đời sống của người bệnh là các dị tật nội quan như dị tật tim, thận và rối loạn chức năng. Bệnh nhân thường có biểu hiện thiếu năng sinh dục, giới tính thứ cấp không phát triển, vô sinh, các rối loạn nội tiết gây chậm phát triển về thể chất, đôi khi chậm phát triển về trí tuệ.

### 2.2.2. Hội chứng Klinefelter



HC Klinefelter là tình trạng không phân ly NST ở nam giới, dẫn đến bệnh nhân có một cặp NST giới tính X thay vì chỉ một NST X (47,XXY). HC này được bác sĩ Harry Klinefelter mô tả lâm sàng lần đầu tiên vào năm 1942. Tần suất bệnh khoảng 1/500 ở các bé trai. Hầu hết người nam 47,XXY có trí thông minh bình thường. Bệnh nhân có thể mất các đặc điểm giới tính thứ phát do giảm sản xuất androgen, với biểu hiện lông ở mặt, thân, cơ quan sinh dục thừa, giọng nói cao và

phân bố mỡ theo kiểu phụ nữ. Vào giai đoạn trẻ của tuổi dậy thì, khoảng 30 - 50% trẻ nam mắc HC Klinefelter biểu hiện vú to thứ phát. Tất cả bệnh nhân 47,XXY bị vô sinh, bệnh nhân thể khảm có thể còn khả năng sinh sản. Về mặt di truyền: 80 - 85% các trường hợp có NST đồ là 47,XXY, còn lại là khảm 47,XXY/46,XY hay 47,XXY/46,XX hoặc 45,X/46,XY/47,XXY. Nguồn gốc của NST bất thường hầu hết do hiện tượng không phân ly NST xảy ra ở người mẹ hoặc bố, một số khác do rối loạn trong phân chia của hợp tử.

### **2.2.3. Hội chứng 47, XYY**

Tần suất bệnh khoảng 1/1000 bé trai. HC này có kiểu hình ít đặc trưng như vóc dáng cao lớn hơn bình thường. Về khả năng phát triển tâm thần, người mang HC 47,XYY có chỉ số IQ bình thường. Tuy nhiên người bệnh nóng tính, thường hay gây hấn. Trong các nhà tù phạm tội nặng, có khoảng 3% tù nhân là XYY, trong số đó có 20% có chiều cao hơn bình thường.

### **2.2.4. Hội chứng triplo X**

Hội chứng triplo X (47,XXX) được Jacobs mô tả đầu tiên vào năm 1959. Tần suất gặp khoảng 1/1000 bé gái. Hầu hết trẻ gái dậy thì và sinh sản bình thường, tuy nhiên một số trường hợp bị vô kinh thứ phát và thường mãn kinh sớm. Trẻ có thể có chỉ số IQ thấp hơn bình thường. Các bất thường NST trên thường không thể điều trị khỏi chính là gánh nặng cho gia đình và xã hội. Biện pháp phòng ngừa tích cực nhất là sàng lọc dựa trên tuổi mẹ, siêu âm, các dấu hiệu sinh hóa... và chẩn đoán trước sinh bằng các xét nghiệm di truyền.

## **2.3. Các phương pháp tầm soát dị tật bẩm sinh trong ba tháng đầu thai kỳ**

### **2.3.1. Dựa trên yếu tố tuổi mẹ**

Tuổi mẹ là yếu tố đầu tiên được sử dụng để sàng lọc thai có nguy cơ dị tật. Nguy cơ này tăng cao ở những thai phụ trên 35 tuổi. Nghiên cứu vào năm 2002 ở Mỹ ghi nhận 51% trường hợp HC Down xảy ra ở thai phụ trên 35 tuổi và chiếm 14% trong tổng số trường hợp, trong đó 5% thai phụ từ 38 - 39 tuổi nhưng chiếm đến 30% trường hợp con bị Down. Phương pháp tầm soát HC Down và các dị tật bẩm sinh khác theo yếu tố tuổi mẹ có tính ứng dụng không cao vì tỉ lệ thai phụ dưới 35 tuổi chiếm đến 91% trường hợp khám thai. Ngoài ra, yếu tố tuổi mẹ là

dấu hiệu lâm sàng có tính đặc hiệu khá thấp nên bác sĩ tư vấn thường không yêu cầu tiếp tục xét nghiệm để chẩn đoán chính xác các bất thường NST nếu các dấu hiệu lâm sàng khác là âm tính.

### **2.3.2. Siêu âm đo khoảng mờ gáy (*Nuchal Translucency*)**

Khoảng mờ gáy (KMG) là một trong những dấu hiệu lâm sàng khá đặc hiệu, do thai bị HC Down thường kèm theo hiện tượng ứ đọng dịch bạch huyết tại vùng gáy. Năm 1992, Nicholaides đề xuất phương pháp siêu âm đo KMG bằng máy siêu âm 2D trên thai từ 10 - 13 tuần 6 ngày tuổi. Sau đó kết quả được phân tích bằng phần mềm FMF (Fetal Medicine Foundation) để xác định nguy cơ các dị tật bẩm sinh trong thai kỳ. Thông thường, vào tuần thứ 11 của thai kỳ, hệ bạch huyết của thai đã phát triển đầy đủ, lượng bạch huyết lưu thông vùng gáy sẽ tạo hình ảnh bóng mờ có độ dày nhỏ hơn 2,5mm. Nếu kết quả siêu âm cho thấy KMG lớn hơn 2,5mm thì thai có nguy cơ cao bị HC Down. Siêu âm đo KMG là chỉ định thường quy trong tầm soát dị tật bẩm sinh vì phương pháp này đơn giản, không xâm lấn và cho kết quả nhanh. Tuy nhiên, chỉ khoảng 85% thai bị dị tật bẩm sinh có KMG lớn hơn 2,5mm. Ngoài ra, độ chính xác của siêu âm còn phụ thuộc vào chủ quan của bác sĩ siêu âm, độ phóng đại thai, kỹ thuật đo, máy siêu âm, thể nằm của thai và thể trạng thai phụ. Vì vậy độ nhạy của phương pháp này không cao, chỉ khoảng 62% với tỉ lệ dương tính giả là 5%.

### **2.3.3. Xét nghiệm *double test***

Double test đo lường nồng độ 2 chất PAPP-A (Pregnancy – associated plasma protein - A) và Free  $\beta$ -hCG (free beta human chorionic gonadotrophin) có trong huyết tương của mẹ vào tuần thai thứ 11 đến 13 tuần 6 ngày. PAPP-A là chất xuất hiện sớm nhất trong huyết tương của thai phụ, do màng nuôi (trophoblast) tiết ra. Nồng độ PAPP-A tăng dần trong suốt thai kỳ, cao nhất vào khoảng 12 tuần (100 $\mu$ l/l). Trong ba tháng đầu thai kỳ, những thai mắc HC Down sẽ có nồng độ PAPP-A trong máu mẹ giảm đáng kể tạo nên một trong những chỉ điểm sinh hóa có giá trị tiên đoán HC Down.

Free  $\beta$ -hCG là một thành phần trong cấu trúc hormone hCG (human chorionic gonadotrophin). hCG đầu tiên được các tế bào lá nuôi của trứng thụ tinh

tiết ra, sau đó sẽ do nhau thai bài tiết. hCG được cấu thành từ hai tiểu đơn vị là  $\alpha$  và  $\beta$ . Thai mắc HC Down thì nồng độ của tiểu đơn vị free  $\beta$ -hCG tăng. Theo nghiên cứu của Wald và cộng sự, xét nghiệm double test 3 tháng đầu thai kỳ có tỉ lệ phát hiện là 75%. Tuy nhiên, xét nghiệm này không thể chẩn đoán tình trạng thai mà chỉ cho biết thai hiện tại có nguy cơ bị rối loạn di truyền NST như thế nào và có cần phải làm thêm xét nghiệm khác nữa không. Để ước tính chính xác mức độ nguy cơ phải kết hợp kết quả xét nghiệm hai chất trên với nhiều yếu tố khác như tuổi của người mẹ, chủng tộc, cân nặng, chiều cao, tiền sử bản thân như tiểu đường, hút thuốc, tình trạng đơn thai hay song thai, tuổi thai vào thời điểm xét nghiệm và tiền sử sản khoa.

#### **2.3.4. Xét Nghiệm Triple test**

Triple test còn được gọi là bộ 3 xét nghiệm, bởi vì chúng cho biết 3 chỉ số: hCG, AFP và estriol. Từ đó có thể tính được nguy cơ khuyết tật của bào thai. 3 chỉ số đó là:

- + AFP (alpha-fetoprotein) là protein được sản xuất bởi bào thai.
- + hCG: một loại hormone được sản xuất trong nhau thai.
- + Estriol: là một estrogen (một dạng hormone) được sản xuất bởi cả bào thai và nhau thai.

Xét nghiệm được thực hiện ở 16 -18 tuần (15-20 tuần)

#### **2.3.5 NIPT (Non-Invasive prenatal testing)**

Trong quá trình thai kỳ diễn ra, một lượng nhỏ các ADN tự do của thai nhi sẽ di chuyển vào máu của thai phụ. Hàm lượng ADN này sẽ tăng theo các giai đoạn phát triển của thai nhi. Dựa vào nguyên lý này, xét nghiệm NIPT sử dụng mẫu máu trực tiếp trong cơ thể người mẹ, thông qua kỹ thuật giải trình tự thế hệ mới (NGS), kết hợp phân tích tin sinh học giúp phân tích các AND tự do, sàng lọc và xác định những bất thường về số lượng nhiễm sắc thể.

Xét nghiệm NIPT có thể tiến hành khi thai 10 tuần tuổi

### Cell free DNA (cfDNA)

Sự hiện diện của ADN bào thai không chứa tế bào (cfDNA) lưu thông trong huyết tương của người mẹ được mô tả lần đầu tiên vào năm 1997.

1. Bắt nguồn từ tế bào chết (apoptosis) cfDNA có thể được giải phóng từ tế bào lá nuôi (cytotrophoblast) của nhau thai.
2. Là những đoạn DNA có kích thước nhỏ (150-200bp)
3. Có thể phát hiện từ tuần thai thứ 7 trở đi
4. Không còn trong máu mẹ vài giờ sau sinh
5. Chiếm 2 –20% tổng số cfDNA trong máu người mẹ

Từ 1997 đến 2010 việc phân tích cfDNA để chẩn đoán di truyền thai nhi bị hạn chế vì lý do công nghệ.

### Sàng lọc Cell free DNA (cfDNA) - NIPT

1. Lấy máu của người mẹ và phân tách cfDNA
2. Giải trình tự cfDNA
3. Phân tích bằng cách đếm

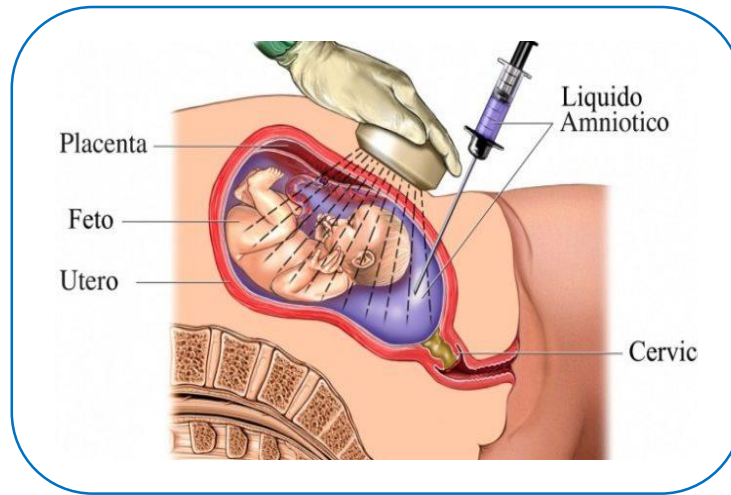
## 2.4. Các phương pháp lấy mẫu trong chẩn đoán trước sinh

Để thực hiện các xét nghiệm di truyền trong chẩn đoán trước sinh, cần phải lấy các tế bào hoặc những vật chất di truyền có nguồn gốc từ thai. Hiện nay, trên thế giới có nhiều phương pháp khác nhau để lấy tế bào thai.

### 2.4.1. Chọc hút dịch ối

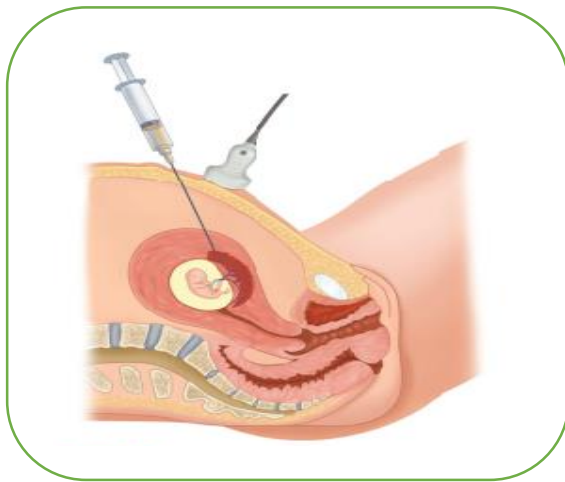
Chọc hút dịch ối là phương pháp lấy tế bào thai bằng cách đưa kim vào buồng ối để hút dịch ối. Thời điểm chọc hút dịch ối lý tưởng là ở tuần thai 16 đến 18 khi tỷ lệ thể tích dịch ối/thai là lớn nhất. Chọc hút dịch ối là một trong những thủ thuật xâm lấn có thể gây một số tai biến cho thai như sảy thai (0,5 – 0,8%), chảy máu bánh nhau gây nhiễm tế bào mẹ trong dịch ối, rỉ ối hoặc gây nhiễm trùng mẹ. Ngày nay chọc hút dịch ối là phương pháp được lựa chọn nhiều nhất. Các tế bào thu được trong dịch ối có nguồn gốc từ nhiều mô khác nhau của thai:

màng ối, da, đường tiết niệu, đường hô hấp, đường tiêu hoá và có thể có cả tế bào máu thai. Tế bào ối thu được ít nguy cơ nhiễm tế bào của mẹ giúp cho chẩn đoán di truyền có độ chính xác cao.



#### 2.4.2. Sinh thiết gai nhau

Sinh thiết gai nhau (STGN) được biết đến từ cuối những năm 1960, nhưng tới năm 1983 khi có sự hướng dẫn của siêu âm, kỹ thuật này mới phổ biến để chẩn đoán trước sinh ở ba tháng đầu của thai.



Vào tuần thứ tư của quá trình phát triển phôi, các tế bào màng nuôi phát triển kéo dài thành gai nhau, lan sâu vào màng rụng thuộc nội mạc tử cung nhằm gia tăng diện tích tiếp xúc giữa thai và cơ thể mẹ. Quá trình này hoàn tất vào khoảng tuần thứ tám. Lúc này gai nhau ngoài tế bào màng nuôi bao xung quanh còn có các tế bào thuộc lá phôi giữa, nguyên bào sợi và đại thực bào mang thông tin di truyền của thai.

Sợi gai nhau gồm 3 thành phần:

- Lớp ngoài cùng syncytiotrophoblast
- Lớp giữa cytotrophoblast có nguồn gốc từ syncytiotrophoblast
- Lớp tế bào lõi mesenchymal chứa mạch máu, ống vận chuyển oxy và chất dinh dưỡng

STGN là kỹ thuật thu mẫu tế bào thai được sử dụng phổ biến nhất trong ba tháng đầu thai kỳ. Kỹ thuật này được thực hiện dưới sự hướng dẫn của siêu âm trong khoảng giai đoạn từ 11 đến 13 tuần 6 ngày. Có 2 cách lấy mẫu gai nhau là con đường qua thành bụng và qua ngã âm đạo. STGN qua âm đạo được thực hiện bằng kim dẻo có nòng bên trong, đường kính khoảng 1,5mm. Dưới sự hướng dẫn siêu âm, kim được đưa thẳng đến bao lá nuôi ở túi thai. Sau khi rút bỏ nòng, 10 - 25mg gai nhau được hút ra bằng ống tiêm 20 hoặc 30 ml. Khi STGN qua bụng, thai phụ nằm ngửa và được siêu âm xác định vị trí bánh nhau, sát trùng vùng bụng dưới rồi đâm kim đi dọc theo chiều dài bánh nhau. Rút nòng rồi gắn ống tiêm, đưa kim lên xuống 4 - 5 lần trong vùng bánh nhau. Gai nhau sau khi lấy được giữ trong ống Falcon 15ml chứa dung dịch NaCl 0,9% có 1% heparin. STGN qua bụng được ưa chuộng hơn vì có tỉ lệ sảy thai thấp, nguy cơ chảy máu và biến chứng nhiễm trùng thấp, ít phải thực hiện nhiều lần và tỉ lệ lấy mẫu thành công ở lần đầu tiên cao.

#### **2.4.3. Sinh thiết mô thai và nội soi thai**

Quan sát thai bằng nội soi được tiến hành lần đầu tiên vào những năm 1950. Cho đến nay, tỷ lệ tai biến của kỹ thuật nội soi thai vẫn ở mức cao: sảy thai (5 - 7%), đẻ non (khoảng 10%), rỉ ối, nhiễm trùng ối, chảy máu, tổn thương bàng quang và ruột... Vì vậy chỉ áp dụng kỹ thuật này khi cần sinh thiết thai lấy mẫu cho những xét nghiệm đặc biệt như các bệnh về da.

#### **2.4.4. Chọc hút máu cuống rốn**

Chọc hút máu cuống rốn được thực hiện từ tuần thai 18. Đây là kỹ thuật có tai biến cao như: sảy thai, chảy máu kéo dài, chảy máu từ thai sang mẹ, bất thường cấu trúc thai, thai chậm phát triển, nang nước... Vì vậy ngày nay, chọc hút máu cuống rốn chỉ áp dụng trong chẩn đoán các bệnh về máu.

## **2.5. Các kỹ thuật chẩn đoán rối loạn nhiễm sắc thể thông dụng hiện nay**

### **2.5.1. Kỹ thuật karyotype**

Nuôi cấy tế bào và phân tích karyotype (nhiễm sắc thể đồ) là phương pháp truyền thống được xem như một tiêu chuẩn vàng trong phân tích rối loạn NST ở người. Ứng dụng kỹ thuật này vào CDTS bắt đầu được nghiên cứu và thực hiện vào năm 1966 khi Steele và Breg báo cáo về nuôi cấy tế bào ối để xác định bộ NST của thai. Tế bào ối, máu cuống rốn hoặc gai nhau được đem nuôi cấy từ 3 - 14 ngày, sau đó sẽ dừng chu kỳ tế bào ở kỳ giữa dưới tác động của colchicine. Tiến hành thu hoạch tế bào và trải tế bào lên lam kính, nhuộm GTG (Giemsa trypsin G-banding) rồi phân tích bộ NST bằng phân mềm chuyên dụng. Kỹ thuật này có thể xác định bất thường về số lượng lẫn cấu trúc các NST với độ chính xác lên đến 99,4 - 99,8% và rất đáng tin cậy. Tuy nhiên karyotype có nhiều bất lợi là thời gian trả kết quả dài từ 14 - 21 ngày. Điều này vừa tạo ra tâm lý bất an kéo dài đối với thai phụ và khiến cho việc chấm dứt thai kỳ nếu được khuyến cáo trở nên phức tạp và nguy hiểm hơn. Ngoài ra, karyotype cần kỹ thuật viên có hiểu biết và thành thạo về kỹ thuật nuôi cấy tế bào cũng như nhuộm băng NST, cần phải tiến hành việc nuôi cấy tế bào ngay sau khi làm thủ thuật để đảm bảo sự phát triển của tế bào và lượng tế bào phải đủ lớn cho nuôi cấy. Một nhược điểm nữa của karyotype là các bất thường NST trong phạm vi nhỏ hơn 5 - 10 Mb không thể phát hiện được do độ phân giải kém.

### **2.5.2. Kỹ thuật QF-PCR**

Nhu cầu thiết thực hiện nay là cần một phương pháp chẩn đoán đơn giản, có thể tự động hóa giúp mang lại kết quả chính xác, nhanh chóng và giá thành rẻ. QF-PCR được xem là phương pháp chẩn đoán nhanh và hiệu quả hiện nay, được nhiều nơi trên thế giới ứng dụng trong phát hiện các lệch bội NST phổ biến 13, 18, 21 và NST giới tính.

**Nguyên tắc QF-PCR:** sử dụng các cặp mồi gắn huỳnh quang để khuếch đại các chuỗi DNA có trình tự lặp lại ngắn (STR - Short Tandem Repeat) đặc hiệu cho các NST và có tính đa hình cao. Sản phẩm PCR sau đó được định lượng trên hệ thống điện di mao quản để xác định số lượng NST. Các trường hợp dị hợp tử

(DHT) bình thường, sản phẩm STR đặc hiệu NST khi phân tách đoạn sẽ cho 2 đỉnh huỳnh quang với tỉ số giữa 2 đỉnh là 1:1. Ở các trường hợp trisomy, 3 NST sẽ biểu hiện 3 đỉnh huỳnh quang với tỉ số là 1:1:1 (trisomy 3 alen) hoặc chỉ có 2 đỉnh với tỉ số là 2:1 (trisomy 2 alen). Nếu đồng hợp tử, sản phẩm sẽ cho 1 đỉnh huỳnh quang duy nhất và không có ý nghĩa chẩn đoán.

### **2.5.3. Kỹ thuật Array CGH**

Kỹ thuật array CGH có thể phát hiện bất thường toàn bộ bộ gen với thời gian nhanh chóng hiện đang được nghiên cứu để đưa vào ứng dụng tại nhiều nước trên thế giới. Array CGH cũng như kỹ thuật CGH truyền thống kỹ thuật này sử dụng các trình tự DNA thay vì NST ở giai đoạn metaphase làm mục tiêu lai. Array CGH có thể phát hiện được lệch bội NST, các vi mất đoạn và các vi lặp đoạn. Array CGH có nhiều thuận lợi trong chẩn đoán trước sinh, là kỹ thuật có độ nhạy và hiệu quả cao, có thể tự động hóa do đó giảm nhân công và thời gian thực hiện xét nghiệm cũng như giá thành. Mặc dù array CGH có nhiều ưu điểm trong chẩn đoán trước sinh nhưng khả năng ứng dụng của kỹ thuật này còn nhiều hạn chế do cần một hệ thống máy móc trang thiết bị đắt tiền. Ngoài ra kỹ thuật này còn cho phép phát hiện những biến đổi rất nhỏ bao gồm cả những biến đổi không ảnh hưởng xấu đến sự biểu hiện kiểu hình, điều này làm cho việc tư vấn kết quả trở nên phức tạp và gây hoang mang cho bệnh nhân.

### **2.5.4. Kỹ thuật lai tại chỗ phát huỳnh quang**

Kỹ thuật lai tại chỗ phát huỳnh quang (FISH) là sự kết hợp giữa di truyền phân tử và di truyền tế bào được nghiên cứu áp dụng vào chẩn đoán trước sinh đầu những năm 1990. Nguyên tắc kỹ thuật sử dụng các đoạn dò phân tử được đánh dấu chất phát huỳnh quang bắt cặp chuyên biệt với một vùng NST đặc hiệu. Dưới kính hiển vi huỳnh quang, các vị trí đoạn dò huỳnh quang gắn với NST sẽ được phát hiện. Dựa vào số lượng tín hiệu màu huỳnh quang để xác định số lượng các NST: tế bào 2n cho 2 tín hiệu, tế bào lệch bội cho ít hơn hoặc nhiều hơn 2 tín hiệu. Vì không cần nuôi cấy nên kỹ thuật FISH cho kết quả xét nghiệm nhanh chỉ trong vòng 2 - 3 ngày. Tuy nhiên giá thành hóa chất xét nghiệm khá cao nên kỹ thuật này khó được áp dụng tại một nước đang phát triển như Việt Nam. Ngoài

ra, FISH tốn nhiều công thao tác nên chỉ thực hiện được số lượng mẫu nhất định trong một lần xét nghiệm. Vấn đề phân tích mẫu trong phòng tối thời gian dài cũng ảnh hưởng đến tinh thần của người làm xét nghiệm.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. John C. Carey (2010), "Trisomy 18 and Trisomy 13 syndromes", Management of Genetic Syndromes (third ed.), John Wiley & Sons, Inc., 807-824.
2. John Langdon Down (1866), "Observations on an ethnic classification of idiots", London Hospital Clinical Lectures and Reports, 3, 259-262.
3. Jeannie Visootsak, J. M. G., Carole Samago-Sprouse, Ronald Swerdloff, Joe Leigh Simpson (2010), "Klinefelter syndrome", Management of Genetic Syndromes (third ed.). John Wiley & Sons, Inc., 479-494
4. National institutes of health (2006), Facts about Down syndrome, USA government
5. Marsha L. Davenport (2010), "Turner syndrome", Management of Genetic Syndromes (third ed.), John Wiley & Sons, Inc., 847-870.
6. <http://www.genetics.edu.au>
7. [http://www.nichd.nih.gov/health/topics/klinefelter\\_syndrome.cfm](http://www.nichd.nih.gov/health/topics/klinefelter_syndrome.cfm)
8. <http://www.patausyndrome.org>
9. <http://www.trisomy18.org/site/PageServer>
10. Alasdair G. H. Hunter (2010), Down syndrome, Management of Genetic Syndromes (third ed.), John Wiley & Sons, Inc., 309-336.
11. Cuckle H. S., Malone F. D., Wright D., Porter T. F., Nyberg D. A., Comstock C. H. et al (2008), "Contingent screening for Down syndrome--results from the FaSTER trial", Prenat Diagn, 28(2), 89-94.
12. Resta R. G. (2005), "Changing demographics of advanced maternal age (AMA) and the impact on the predicted incidence of Down syndrome in the United States: Implications for prenatal screening and genetic counseling", Am J Med Genet A, 133A (1), 31-36.
13. Trịnh Văn Bảo & Trần Thị Thanh Hương (2011), Di truyền Y học, Nhà xuất bản giáo dục Việt Nam.