

## KỸ THUẬT CHẨN ĐOÁN DI TRUYỀN TIỀN LÀM TỔ (PGD)

**ThS. BS. Đặng Quang Vinh**

*HOSREM*

*CGRH, Khoa Y Đại học Quốc gia TP HCM*

### GIỚI THIỆU

Thuật ngữ “ chẩn đoán di truyền tiền làm tổ” được dịch từ tiếng Anh “Preimplantation Genetic Diagnosis”, viết tắt là PGD. Mục tiêu của PGD là nhằm tạo ra những thai kỳ không bị bất thường về di truyền đã được chẩn đoán và tầm soát. Kỹ thuật này cho phép các cặp vợ chồng có nguy cơ truyền các bệnh lý về di truyền cho con có cơ hội sinh con không mắc bệnh, mà không phải bỏ thai khi phát hiện bệnh lý thông qua chẩn đoán tiền sản. Do đó, PGD có thể được xem là một dạng chẩn đoán trước sinh đặc biệt, được thực hiện trên các phôi từ thụ tinh trong ống nghiệm (TTTON), trước khi phôi được chuyển vào tử cung.

Năm 1990, PGD được thực hiện đầu tiên với phôi từ TTTON nhằm sàng lọc di truyền trên đối tượng phôi người. Sau 20 năm phát triển, PGD đã trở thành một xét nghiệm lâm sàng quan trọng trong kỹ thuật hỗ trợ sinh sản với hơn 6500 chu kỳ TTTON – PGD được thực hiện trên toàn thế giới và cho đến nay, hàng nghìn trẻ được sinh ra khỏe mạnh từ kỹ thuật này đã được báo

cáo. Số liệu từ hai báo cáo gần nhất trong các báo cáo hàng năm về PGD toàn châu Âu, số liệu từ hai báo cáo gần nhất, báo cáo lần IX và lần X, cho thấy mỗi năm châu Âu có khoảng 6.000 trường hợp PGD được thực hiện và khoảng 1.000 em bé PGD ra đời. Tại khu vực Đông Nam Á, PGD cũng đã được thực hiện thường quy từ 5-10 năm qua tại Thái Lan, Malaysia và Singapore để chẩn đoán lệch bội, chuyển đoạn nhiễm sắc và chẩn đoán các bệnh lý đơn gen.

### ỨNG DỤNG CỦA PGD

PGD có nhiều ưu điểm so với chẩn đoán tiền sản thông thường, trong đó, quan trọng nhất là giúp tránh được việc phải chấm dứt thai kỳ, bỏ thai nếu phát hiện thai nhi có bất thường di truyền. Việc chấm dứt thai kỳ khi phát hiện bệnh lý thông qua chẩn đoán tiền sản có thể ảnh hưởng đến sức khỏe, tương lai sản khoa của người phụ nữ hay để lại những di chứng về thực thể hay tâm lý cho người phụ nữ. Ngoài ra, trong một số trường hợp, việc bỏ thai có thể gặp phải một số vấn đề về pháp lý hay tôn giáo. Với kỹ thuật PGD, người ta có thể tiến hành thực hiện việc chẩn đoán các bất thường nhiễm

sắc thể (NST) của phôi trước khi chuyển vào tử cung người phụ nữ. Đây được xem là chỉ định phổ biến nhất hiện nay của PGD tại các trung tâm TTTON trên thế giới, chiếm hơn 90% các trường hợp có thực hiện PGD. Một số tổng quan về các phân tích về di truyền của sẩy thai tự nhiên thấy rằng từ 50-90% thai sẩy là do bất thường NST. Trong đó, bất thường về số lượng NST 13, 14, 15, 16, 21 và 22 là nguyên nhân thường gặp nhất của sẩy thai. Vấn đề được đặt ra là làm thế nào loại được các phôi lệch bội hay có bất thường NST trước khi cấy vào buồng tử cung giúp giảm sẩy thai và giảm tỉ lệ bỏ thai khi phát hiện bất thường ở thai bằng chẩn đoán tiền sản thông thường.

Có hai nhóm phụ nữ có thể được áp dụng trong chỉ định chẩn đoán bất thường NST là (1) những phụ nữ hiếm muộn đang điều trị vô sinh bằng TTTON. PGD các phôi TTTON cho phép xác định và loại bỏ các phôi có bất thường về di truyền để tránh sự phát triển và sinh ra những cá thể bị bệnh di truyền, đồng thời, theo một số tác giả, có thể giúp cải thiện tỉ lệ làm tổ của phôi sau khi được chuyển vào tử cung và (2) những phụ nữ không thuộc nhóm hiếm muộn, có tiền sử sẩy thai nhiều lần không rõ nguyên nhân, lớn tuổi, có tiền sử sinh con bất thường NST hoặc bố mẹ có nguy cơ truyền cho con các bệnh di truyền liên kết với giới tính...

Ngoài ra, PGD còn có thể được áp dụng để chẩn đoán bệnh do bất thường gen. Hiện nay, PGD có thể được

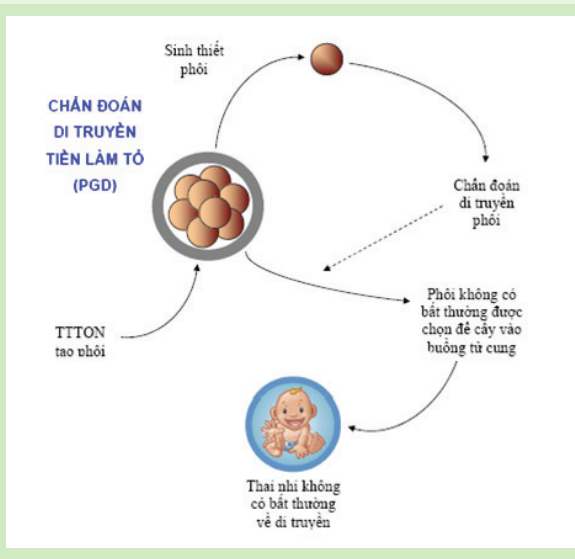
áp dụng để chẩn đoán cho hơn 170 bệnh lý khác nhau có liên quan đến rối loạn đơn gen. Ngày càng các nhà khoa học càng xác định được trình tự ADN của các gen này. Điều này cho phép PGD chẩn đoán xác định các phôi không có các gen bệnh và cho phép chọn lọc, cấy các phôi này vào tử cung. Bên cạnh đó, PGD còn được chỉ định cho các cặp vợ chồng có nguy cơ truyền bệnh lý di truyền cho con. Đối với bệnh lý do gen trội ở NST thường, người mang gen bệnh có khả năng tạo ra 50% số phôi bị mắc bệnh. Đối với bệnh lý do gen lặn ở NST thường, cặp vợ chồng mang gen bệnh có khả năng tạo ra 25% số phôi mắc bệnh. Nếu người phụ nữ mang gen bệnh lặn, trên NST giới tính sẽ có khả năng tạo ra 25% phôi mắc bệnh, trong đó 50% số phôi là trai sẽ bị bệnh.

Ngày nay, PGD không chỉ giới hạn ở việc loại trừ các bệnh lý di truyền thể hiện ngay lúc sinh, mà còn được mở rộng để loại trừ các bệnh lý di truyền khởi phát muộn do các yếu tố di truyền tiềm ẩn. Những gen này tuy không chắc chắn gây bệnh nhưng người có các gen này có thể có nguy cơ cao bị một bệnh lý nhất định, ví dụ tầm soát gen gây bệnh ung thư vú BRCA1. Gần đây PGD còn được áp dụng trong các chỉ định không liên quan đến bệnh, như chọn lọc các phôi có hệ HLA phù hợp với trẻ bệnh đã sanh ra trước đó. Kỹ thuật này được áp dụng để tìm những phôi khỏe mạnh, đồng thời có HLA tương thích với trẻ bị bệnh có cùng bố mẹ. Điều này cho phép sử dụng liệu pháp bằng tế bào gốc để điều trị bệnh cho các trẻ bệnh với nguồn tế bào gốc có hệ HLA tương thích.

## KỸ THUẬT

Kỹ thuật của PGD dựa trên việc thực hiện TTTON để tạo phôi, sau đó sinh thiết phôi và tiến hành chẩn đoán di truyền. Nhìn chung, quy trình kỹ thuật của PGD bao gồm ba công đoạn chính là (1) làm thủng màng trong suốt, (2) sinh thiết phôi và (3) chẩn đoán di truyền.

Làm thủng màng trong suốt nhằm mục đích tạo một lỗ trên màng trong suốt. Thông qua lỗ thủng này, người ta sử



dụng kim sinh thiết để hút các tế bào có trong phôi. Quá trình làm thủng màng trong suốt có thể được thực hiện bằng nhiều cách khác nhau như (1) sử dụng dung dịch Tyrodes có tính acid, (2) xé màng trong suốt bằng phương pháp cơ học và (3) sử dụng tia laser không tiếp xúc.

Hiện nay, sinh thiết tế bào để làm chẩn đoán di truyền có thể thực hiện ở các giai đoạn khác nhau trong quá trình phát triển của phôi như (1) sinh thiết các thể cực ở giai đoạn noãn trưởng thành hay sau thụ tinh; (2) sinh thiết phôi bào ở giai đoạn phân chia vào ngày thứ 3 (6-8 tế bào) và (3) sinh thiết các tế bào lá nuôi ở giai đoạn phôi nang. Sinh thiết thể cực có ưu điểm là ít ảnh hưởng đến sự phát triển của phôi vì đây là các sản phẩm phụ bị loại bỏ trong quá trình phát triển của trứng và hợp tử. Ngoài ra, sinh thiết thể cực có thể được phối hợp với sinh thiết phôi bào để tăng độ chính xác của các chẩn đoán di truyền. Tuy nhiên, sinh thiết thể cực có nhược điểm lớn là chỉ có thể chẩn đoán các bất thường từ mẹ do thể cực chỉ chứa các nhiễm sắc thể xuất phát từ trứng. Trong khi đó, việc sinh thiết phôi ở giai đoạn phân chia được áp dụng phổ biến nhất hiện nay. Ở giai đoạn phát triển này, các phôi bào có tính toàn năng (potitotent) nên việc lấy đi 1-2 tế bào trong phôi thường không ảnh hưởng đến khả năng phát triển sau này. Hiện tượng liên kết giữa các phôi bào có thể đã bắt đầu vào thời điểm này, để chuẩn bị sang giai đoạn phôi dâu vào ngày tiếp theo. Do đó, có thể gặp khó khăn khi sinh thiết phôi bào ở giai đoạn phân chia. Việc chẩn đoán di truyền được thực hiện chỉ trên 1 hoặc 2 tế bào có được cũng là một thách thức của kỹ thuật. Ngoài ra, hiện tượng khảm (mosaicism) vẫn có thể xảy ra ở giai đoạn này. Điều này dẫn đến kết quả chẩn đoán di truyền trên phôi bào sinh thiết được có thể không thể hiện chính xác cấu trúc di truyền của phôi.

Sinh thiết phôi ở giai đoạn phôi nang thường được tiến hành vào ngày 5 sau thụ tinh, trong đó, một số tế bào (5-10 tế bào) thuộc lớp tế bào lá nuôi sẽ được sinh thiết để làm chẩn đoán di truyền. Như vậy, chúng ta sẽ có nhiều tế bào hơn để thực hiện chẩn đoán di truyền. Phôi được sinh thiết ở giai đoạn này thường có sức sống cao

hơn so với phôi giai đoạn phân cắt. Tuy nhiên, sinh thiết ở giai đoạn phôi nang cũng gặp một số bất lợi như trong quá trình nuôi cấy in vitro, nhiều phôi có thể không phát triển được đến giai đoạn phôi nang. Ngoài ra kết quả di truyền chẩn đoán được có thể không thể hiện chính xác di truyền của phôi do hiện tượng khảm ở các tế bào lá nuôi.

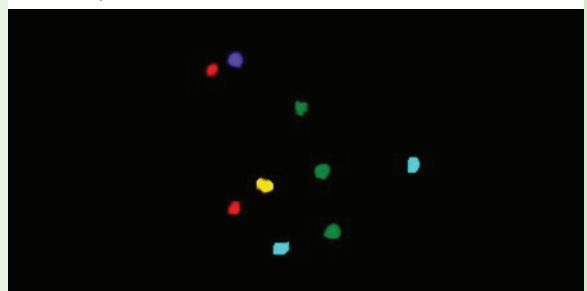
Các tế bào sau sinh thiết sẽ được tiến hành chẩn đoán di truyền. Quá trình chẩn đoán có thể được chia làm hai cấp độ là chẩn đoán bất thường NST và chẩn đoán bất thường về gen. Đối với các bất thường NST về số lượng hay cấu trúc (chuyển đoạn), kỹ thuật lai huỳnh quang tại chỗ (FISH) thường được sử dụng. Các mẫu dò (probe) sử dụng tập trung vào các nhiễm sắc thể có ý nghĩa về mặt lâm sàng như X, Y, 13, 18, 21 và có thể mở rộng với các nhiễm sắc thể 15, 16, 22. Khi bị lệch bội về các nhiễm sắc thể trên, phôi vẫn có thể tiếp tục làm tổ và phát triển trong buồng tử cung. Trong đó, một số có thể tiếp tục phát triển thành thai nhi và sanh sống. Mỗi mẫu dò đặc trưng cho 1 NST và được đánh dấu huỳnh quang khác nhau để phân biệt.

Để thực hiện chẩn đoán các bất thường về gen, điều kiện tiên quyết là việc chẩn đoán gen bệnh là khả thi.

Phôi bình thường



Trisomy 21



■ NST 18      ■ NST 13      ■ NST Y  
■ NST 23      ■ NST X

Điều này được thực hiện bằng cách lấy máu bố mẹ, xác định trình tự gen bệnh ở bố mẹ và thiết kế mồi. Điều này cần được thực hiện trước khi tiến hành TTON để tạo phôi. Phôi sau đó sẽ sinh thiết và cho các tế bào sinh thiết từ mỗi phôi vào tube chạy PCR và phân tích các gen bệnh. Các phôi âm tính với gen bệnh sẽ được sử dụng để cấy vào buồng tử cung.

## TÍNH AN TOÀN CỦA PGD

Sau hơn 20 năm, PGD hiện nay đã trở thành một kỹ thuật phổ biến trên thế giới. Tuy nhiên, vẫn còn một số tranh luận về chỉ định, kỹ thuật và kết quả của PGD. Một vấn đề kỹ thuật được chú ý nhiều nhất là việc sinh thiết phôi. Sinh thiết phôi giúp cung cấp nguyên liệu để chẩn đoán di truyền. Tuy nhiên, việc sinh thiết phôi được xem là có thể làm tổn thương cho phôi. Do đó, tỉ lệ dị tật bẩm sinh và sức khỏe của trẻ sinh ra sau PGD là vấn đề được quan tâm nhiều nhất.

Hiện nay, ước tính có trên 6.000 trẻ sinh ra từ các chu kỳ PGD trên thế giới. Tất cả các nghiên cứu lớn về tỉ lệ dị tật và sự phát triển của trẻ sinh ra sau PGD đều cho thấy không có khác biệt đáng kể so với dân số bình thường hoặc dân số TTON, sau khi đã hiệu chỉnh một số yếu tố liên quan. Tuy nhiên, các chuyên gia cho rằng cần thu thập có số liệu đủ lớn (trên 10.000) để có kết quả thuyết phục hơn về tỉ lệ dị tật ở trẻ sau PGD. Ngoài ra, các nhà khoa học cho rằng có thể có sai lệch trong ghi nhận bất thường ở các thai kỳ PGD và trẻ sinh ra từ PGD do các trường hợp này thường được khảo sát và theo dõi nhiều hơn, do đó cơ hội phát hiện các bất thường sẽ có xu hướng cao hơn.

## PGD TẠI VIỆT NAM

Sự phát triển của PGD gắn liền với các kỹ thuật hỗ trợ sinh sản. Hiện nay, ngành hỗ trợ sinh sản ở Việt Nam đã có những bước tiến lớn và theo kịp trình độ các nước trong khu vực trong hầu hết các kỹ thuật. Vừa qua, đề tài nghiên cứu xây dựng qui trình PGD do Sở Khoa học Công nghệ TPHCM chủ trì và các nhóm nghiên cứu từ

Đại học Y Dược, HOSREM, Bệnh viện Vạn Hạnh thực hiện đã báo cáo kết quả thành công và nghiệm thu cấp thành phố. Thành tựu này sẽ mở ra khả năng ứng dụng của PGD ở Việt nam trong tương lai gần.

Vấn đề sinh sản người ở Việt nam đã và đang bước vào một chu kỳ mới với các thay đổi rõ rệt như (1) số sinh giảm do chính sách kế hoạch gia đình thành công, đồng thời giáo dục sức khỏe và dân trí cải thiện, (2) tuổi mẹ khi sinh con tăng dẫn đến tăng nguy cơ các bất thường ở thai nhi, (3) vấn đề chất lượng dân số ngày càng được chú trọng và (4) trình độ khoa học kỹ thuật ngày càng phát triển. Trong bối cảnh đó, các biện pháp sàng lọc chẩn đoán sớm cho thai ngày càng có vai trò lớn trong sinh sản và xã hội nói chung. Thực hiện được PGD ở Việt Nam sẽ mở ra nhiều ứng dụng trong chẩn đoán di truyền, nâng cao chất lượng dân số và phát triển các công nghệ y - sinh học, góp phần đáp ứng nhu cầu của xã hội và sự phát triển của các lãnh vực liên quan ở Việt Nam. Tuy nhiên việc triển khai PGD cần có những hướng dẫn và qui định của Bộ Y tế để tránh việc lạm dụng kỹ thuật.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO CHÍNH

1. Harper JC, Coonen E, De Rycke et.al. (2010). ESHRE PGD Consortium data collection IX: cycles from January to December 2007 with pregnancy follow-up to October 2008. Hum Reprod (in press).
2. Hồ Mạnh Tường, Trương Đình Kiệt, Đặng Quang Vinh (2009). Chẩn đoán di truyền tiền làm tổ. Y học thành phố Hồ Chí Minh; 13 (phụ bản 1): 1-5.
3. Kuliev A, Verlinsky Y (2008). Preimplantation genetic diagnosis: technological advances to improve accuracy and rangr of applications, Repord Biomed Online, 16: 532 – 538
4. Liebaers I, Desmyttere S, Verpoest W et al. (2010). Report on a consecutive series of 581 children born after blastomere biopsy for preimplantation genetic diagnosis. Hum Reprod; 25:275-282.
5. Munne S, Wells D, Cohen J (2010) Technology requirements for preimplantation genetic diagnosis to improve assisted reproduction outcomes. Fertil Steril;94: 408-430.
6. Nguyễn Thị Thu Lan, Bùi Võ Minh Hoàng, Trương Thị Thanh Bình, Đặng Quang Vinh, Hồ Mạnh Tường, Trương Đình Kiệt (2010) Chẩn đoán di truyền tiền làm tổ (PGD) trong thụ tinh trong ống nghiệm. Thời Sự Y học;56:3-8.