

TIỀM NĂNG VÀ THÁCH THỨC CỦA CÔNG NGHỆ SÀNG LỌC DI TRUYỀN TRƯỚC SINH TỪ GÓC ĐỘ LÂM SÀNG DỰA TRÊN CÁC ĐÁNH GIÁ HỌC THUẬT

TS. BS. Lâm Đỗ Phương Uyên

Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch

Sàng lọc trước sinh để phát hiện các bất thường nhiễm sắc thể đã được tiến hành từ những năm 1960. Việc sàng lọc trong tam cá nguyệt đầu tiên, kết hợp tuổi mẹ, các thông số huyết thanh của mẹ và kết quả siêu âm, xuất hiện vào những năm 1990 với tỷ lệ phát hiện khoảng 90 – 95% và tỷ lệ dương tính giả khoảng 5%. Với sự phát triển của siêu âm độ phân giải cao, khoảng 50% các dị tật thai nhi hiện được phát hiện trong tam cá nguyệt đầu tiên. Xét nghiệm trước sinh không xâm lấn (Non-Invasive prenatal testing – NIPT) để tìm thể tam nhiễm sắc thể 13, 18, 21 là một phương pháp sàng lọc hiệu quả cao và đã được áp dụng như một phương pháp sàng lọc đầu tay hoặc ngẫu nhiên trên toàn thế giới từ năm 2012, ở một số quốc gia không có chương trình sàng lọc có hệ thống.

Cùng với sự phát triển của công nghệ, khả năng sàng lọc các yếu tố di truyền bằng cách phân tích DNA tự do trong máu mẹ (cell-free DNA – cfDNA), chẳng hạn như các dị thường nhiễm sắc thể giới tính (Sex chromosome anomalies – SCA), các dị thường hiếm gặp ở thể di truyền lặn (Rare autosomal anomalies – RAT) và các đột biến về số lượng đoạn gen hoặc đoạn DNA. Kỹ thuật microarray (Chromosomal microarrays – CMA) có thể phát hiện các vi mất đoạn và lặp đoạn ở cấp độ vi mô đã thay thế các xét nghiệm di truyền thông qua nhiễm sắc thể

đồ. Hơn nữa, các phương pháp dựa trên việc xác định các điểm đa hình đơn nucleotide (SNP), giải trình tự thế hệ tiếp theo (Next-generation sequencing – NGS) như giải trình tự exome lâm sàng (clinical exome sequencing, CES), giải trình tự toàn bộ exome (Whole exome sequencing – WES) và giải trình tự toàn bộ hệ gen (whole genome sequencing – WGS) có một bước tiến đáng kể trong chẩn đoán sớm và chính xác những thai nhi mang dị tật bẩm sinh.

SÀNG LỌC DỰA TRÊN cfDNA

Sàng lọc các dị thường nhiễm sắc thể giới tính (Sex chromosome anomalies – SCA)

Việc sàng lọc các dị thường nhiễm sắc thể giới tính thường bao gồm 45, X (hội chứng Turner) và các biến thể di truyền như hội chứng Klinefelter (47, XXY), Triple X (47, XXX) và hội chứng Jacobsen (47, XYY).

Các SCA thông qua siêu âm trong thai kỳ không phổ biến ngoại trừ hội chứng Turner. Tỷ lệ phát hiện SCA trong tầm soát tam cá nguyệt đầu tiên định kỳ cho trisomy 21 thay đổi từ 42% đối với hội chứng Turner xuống 5% đối với hội chứng Jacobsen. Tỷ lệ sảy thai tự nhiên dường như không tăng ở thai nhi hội chứng Klinefelter, Triple X, và hội chứng Jacobsen, nhưng lại cao đáng kể ở thai nhi mang hội chứng Turner. Hầu hết nữ giới Triple X và nam giới mắc hội chứng

Jacobsen không được phát hiện trong suốt cuộc đời của họ. Rất khó hoặc không thể dự đoán kiểu hình cho các hội chứng này. Thậm chí khi mô tả chúng như các tình trạng bệnh lý, sẽ gây phức tạp cho việc tư vấn và ra quyết định trước sinh. Mặc dù chậm phát triển trí tuệ nói chung không phải là vấn đề, nhưng tỷ lệ nạo phá thai vẫn còn cao, đặc biệt đối với những thai nhi bị ảnh hưởng bởi hội chứng Turner. Các xét nghiệm hiện tại không được đánh giá để phát hiện những dị thường nghiêm trọng này và chúng có thể ẩn sau kết quả NIPT dương tính (Bedei và cs., 2021; Ramdaney và cs., 2018).

Có một vài yếu tố góp phần làm giảm hiệu suất phát hiện. Các dị thường nhiễm sắc thể giới tính thường có xu hướng mang thể khảm bán nhau, có thể được tìm thấy ở 1 – 2% nhau thai người, trong đó đơn bào X là dị thường nhiễm sắc thể liên quan thường xuyên nhất, và tuổi mẹ có thể liên quan đến kết quả dương tính giả trong một số trường hợp. Nguyên nhân khác có thể do sự biến mất các bất thường về nhiễm sắc thể giới tính của người mẹ và thường xảy ra ở các cặp song sinh, chưa được phát hiện khi thực hiện NIPT và thường không được đưa vào tư vấn trước khi sinh.

Sàng lọc các biến thể số lượng bản sao (Copy Number Variants – CNVs, “NIPT mở rộng”)

Các dị thường về cấu trúc nhiễm sắc thể, như mất đoạn hoặc lặp đoạn không thể được phát hiện bằng phương pháp nhiễm sắc thể đồ với độ phân giải tiêu chuẩn 5 – 10 Mb (Levy và Burnside, 2019). Với sự ra đời của phương pháp microarray trong y học tiền sản, các CNVs đã góp phần lớn trong chẩn đoán các dị tật thai nhi. Hiệu suất chẩn đoán bổ sung khoảng 6 – 9% đối với những thai nhi có u ác tính có thể phát hiện được trên siêu âm nhưng cho kết quả bình thường trên nhiễm sắc thể đồ. Việc phát hiện các đột biến vi mất đoạn và lặp đoạn cũng tăng lên ở những thai nhi có độ mờ da gáy (nuchal translucency thickness – NT) dày và các thông

số dấu ấn sinh học trong mẫu huyết thanh bất thường trong sàng lọc tam cá nguyệt đầu tiên với tỷ lệ 13,8% ở thai nhi có NT 3,5 mm. Các hội chứng liên quan đến các đột biến vi mất đoạn và lặp đoạn thường có biểu hiện khác nhau. Chúng có thể được di truyền bởi cha mẹ không bị ảnh hưởng hoặc bị ảnh hưởng nhẹ hoặc có thể xảy ra de novo, và khó dự đoán bệnh trong trường hợp không có dị thường qua siêu âm.

Các CNVs không chỉ liên quan đến các rối loạn di truyền mà còn liên quan đến sự biến đổi di truyền và không nhất thiết phải liên quan đến một kiểu hình bệnh (Levy và Burnside, 2019; Gurbich và Ilinsky, 2020). Do đó, các CNVs nhiều khả năng được phân loại là gây bệnh hoặc có khả năng gây bệnh nếu chúng liên quan đến các gen mã hóa, có kích thước lớn và không được tìm thấy ở bố mẹ hoặc ở các mẫu đối chứng bình thường. Đối với một số CNVs gây bệnh, chậm phát triển trí tuệ và thiếu năng trí tuệ là những vấn đề phổ biến liên quan đến sự phát triển, bất thường về chức năng và không thể phát hiện được trên siêu âm trước khi sinh. Không giống như các trisomy thông thường, các CNVs không liên quan đến tuổi mẹ. Nguy cơ đối với một CNVs gây bệnh ảnh hưởng đến thai kỳ mà không có bất kỳ yếu tố nguy cơ nào hoặc chỉ xuất hiện các dị thường trên siêu âm, có nhiễm sắc thể đồ bình thường, là từ 0,86% đến 1,7%. (Bedei và cs., 2021). Với số lượng CNVs được phát hiện ngày càng nhiều thông qua phương pháp tiếp cận toàn bộ hệ gen gây phức tạp trong việc tư vấn lâm sàng. Hiện tại, việc sàng lọc định kỳ các CNVs cần được nhiều nghiên cứu xác nhận thêm.

Sàng lọc các dị thường hiếm gặp ở thể di truyền lặn (rare autosomal anomalies – RATs)

Các dị thường hiếm gặp ở thể di truyền lặn là bộ ba các nhiễm sắc thể thường, khác với thể tam bội 13, 18, và 21. Phần lớn các trường hợp RATs được chẩn đoán trước sinh bằng các xét nghiệm xâm lấn hoặc không xâm lấn trong các

trường hợp mang thai dự đoán là tam nhiễm thể khảm, hầu hết chỉ giới hạn ở bánh nhau. Xác suất RATs được phát hiện trong tế bào nguyên bào nuôi đại diện cho bệnh khảm thai nhi có tỷ lệ khoảng 3% và thấp hơn so với các thể trisomy 13, 18, 21, và các dị thường nhiễm sắc thể giới tính (Benn và cs., 2019).

Nếu nhiễm sắc thể đồ của thai nhi từ chọc dò màng ối cho kết quả bình thường, vẫn có nguy cơ thai nhi bị dị tật trong giai đoạn đầu sau khi thụ thai dẫn đến tình trạng khảm, không được chẩn đoán trong các tế bào từ nước ối. Các nhiễm sắc thể có liên quan được phát hiện là 6, 7, 11, 14, 15 và 20, nhưng không phải tất cả đều có giá trị về mặt lâm sàng.

Một số nghiên cứu phát hiện thể tam bội có liên quan đến nhiễm sắc thể 7, 15, 16 và 22 (Benn và cs., 2019; Gou và cs., 2020). Trisomy 16 có liên quan đến hạn chế sự phát triển nghiêm trọng trong tử cung (Intrauterine growth restriction – IUGR), tiền sản giật và dị tật thai nhi. Hầu hết các RATs rất hiếm xảy ra và thường ở trạng thái khảm, nên khó dự đoán chính xác về ảnh hưởng cụ thể của chúng đối với từng thai kỳ (Benn và cs., 2019). Tuy nhiên, sàng lọc RATs giúp theo dõi thai kỳ chặt chẽ hơn để phát hiện sớm IUGR và ngăn ngừa thai chết lưu.

CÁC CÔNG CỤ CHẨN ĐOÁN MỚI TRONG SÀNG LỌC TRƯỚC SINH

Trong nhiều thập kỷ, thực hiện nhiễm sắc thể đồ là xét nghiệm tiêu chuẩn vàng trong sàng lọc trước sinh. Tuy nhiên, phương pháp này không thể phát hiện các đột biến vi mất đoạn, lặp đoạn, các đột biến đơn gen và Hội chứng di truyền uniparental disomy (UPD) hoặc các rối loạn biểu sinh khác. Từ đó đã phát triển nhanh chóng các phương pháp xét nghiệm di truyền và các công cụ chẩn đoán mới trong sàng lọc trước sinh.

Kỹ thuật quét vi dây nhiễm sắc thể (phân tích microarray)

Dị tật di truyền trước sinh thường có tỷ lệ

hiện mắc là 3%, với thể dị bội, đa bội, đột biến vi mất đoạn (bao gồm cả CNV) và rối loạn đơn gen được phân bố gần như bằng nhau, thường có tỷ lệ 1/100 trường hợp cho mỗi dị thể (Borrell, 2018). Các CNV và các bệnh đơn gen đòi hỏi các kỹ thuật đặc biệt về di truyền tế bào phân tử và giải trình tự gen (giải trình tự Sanger và giải trình tự thế hệ tiếp theo NGS). Các đột biến vi mất đoạn là nguyên nhân gây ra các dị thường đáng kể, hạn chế sự phát triển và dẫn đến các bệnh lý chức năng nghiêm trọng, ví dụ như động kinh. Đột biến lặp đoạn cũng là nguyên nhân cơ bản gây ra các dị tật liên quan đến sự phát triển và rối loạn các chức năng của cơ thể.

Kỹ thuật phân tích microarray đề cập đến hai vi mảng khác nhau: (1) SNP array dựa trên điểm đa hình đơn nucleotide cho phép phát hiện các thể đa bội và thể dị bội; (2) array CGH dựa trên lai ghép so sánh bộ gen, để phát hiện số lượng bản sao liên quan đến bộ gen đối chứng.

Kỹ thuật microarray có thể cho hiệu quả chẩn đoán ở 5/49 (khoảng 10%) thai nhi có nhiều dị tật. Gần đây, việc ứng dụng microarray trong chẩn đoán trước sinh cho các chỉ định khác nhau dẫn đến tỷ lệ phát hiện mầm bệnh tăng thêm từ 1,7% đến 9% trong khi nhiễm sắc thể đồ cho kết quả bình thường. Hiệu quả chẩn đoán cao nhất được nhìn thấy ở những thai nhi có nhiều dị tật, đặc biệt là dị tật về tim và thận. Ở nhiều quốc gia, phân tích vi dây nhiễm sắc thể đã thay thế phương pháp chẩn đoán thông thường và được sử dụng như một kỹ thuật chẩn đoán đầu tay, bắt buộc trong các chỉ định đặc biệt (Bedei và cs., 2021).

Giải trình tự toàn bộ hệ gen (Genome-Wide Sequencing – GWS)

Các phương pháp giải trình tự mới (giải trình tự thế hệ tiếp theo, NGS) cho phép khảo sát song song nhiều gen của thai nhi trong một thời gian hợp lý, điều này rất quan trọng trong chẩn đoán trước sinh. Một số cách tiếp cận có thể được áp dụng, chẳng hạn kiểm tra không chỉ một gen đơn lẻ, mà còn cho nhiều gen có thể

được liên kết với một kiểu hình cụ thể. Đối với các kiểu hình không đặc hiệu, các phương pháp tiếp cận toàn bộ hệ gen khả thi hơn. Có thể bao gồm tất cả các gen bệnh đã biết trong một exome lâm sàng (CES), tất cả các gen đã biết bao gồm cả những gen chưa được liên kết với một kiểu hình hoặc một bệnh cụ thể (giải trình tự toàn bộ exome, WES) hoặc bao gồm trình tự của toàn bộ hệ gen (WGS), bao gồm DNA điều hòa, không mã hóa và DNA ty thể (van den Veyver và Eng, 2015).

Phương pháp giải trình tự exome lâm sàng và toàn bộ exome, chiếm khoảng 1 – 2% tổng số DNA bộ gen, thường được áp dụng trong thực hành lâm sàng. Nếu các mẫu của cha mẹ được kiểm tra trực tiếp cùng với bào thai (exome bộ ba), thì phân tích định dạng sinh học và giải thích các trình tự biến thể có thể được tối ưu hóa.

Hiệu suất chẩn đoán trong việc sử dụng các phương pháp tiếp cận giải trình tự thể hệ tiếp theo tăng đáng kể so với các kỹ thuật thông thường như karyotype hoặc kỹ thuật phân tích microarray nhiễm sắc thể trong y học trước sinh. Trong nghiên cứu PAGE, kết quả chẩn đoán ở những thai nhi có nhiều dị tật, bao gồm dị tật về hệ xương và dị tật tim, chiếm 15,4%. Việc phân tích và giải thích các biến thể vẫn còn là một thách thức. Tùy thuộc vào tuổi thai, có thể chưa phát hiện chính xác các kiểu hình dị thường, bởi vì các dị thường có thể phát sinh tuần tự vào cuối thai kỳ (Drury và cs, 2015). Tuy nhiên, có thể phát hiện ngẫu nhiên các biến thể di truyền đối với các bệnh biểu hiện muộn ở thai nhi cũng như ở cha mẹ, trong trường hợp tiếp cận bộ ba trình tự thể hệ tiếp theo.

KẾT LUẬN

Một số công cụ chẩn đoán mới được phát triển trong những năm gần đây đã hỗ trợ nhiều

cho việc chẩn đoán tiền sản và giúp sàng lọc các bệnh lý về di truyền ở thai nhi. Các công cụ chẩn đoán mới đặt ra một số thách thức về kỹ thuật và đạo đức, kết hợp với kiểm tra siêu âm. Trong các xét nghiệm chẩn đoán trước sinh, việc sử dụng kỹ thuật quét vi dây microarray trong sàng lọc các bất thường trên gen, hoặc gần đây là phương pháp giải trình tự thể hệ tiếp theo, đã cho hiệu quả đáng kể trong chẩn đoán trước sinh. Các phương pháp này nên được sử dụng bổ sung trong các trường hợp dị tật thai nhi với kết quả xét nghiệm bình thường thông qua phân tích mẫu vi mô hoặc phân tích nhiễm sắc thể thông thường. Việc tư vấn trước và sau xét nghiệm di truyền nhằm đảm bảo sự đồng thuận của bệnh nhân, và là cơ sở để thực hiện các chiến lược xét nghiệm di truyền chẩn đoán trước sinh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bedei I, Wolter A, Weber A, Signore F, Axt-Fliedner R. Chances and Challenges of New Genetic Screening Technologies (NIPT) in Prenatal Medicine from a Clinical Perspective: A Narrative Review. *Genes* (Basel). 2021 Mar 29;12(4):501. doi: 10.3390/genes12040501. PMID: 33805390; PMCID: PMC8065512.
2. Benn P, Malvestiti F, Grimi B, Maggi F, Simoni G, Grati FR. Rare autosomal trisomies: comparison of detection through cell-free DNA analysis and direct chromosome preparation of chorionic villus samples. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2019 Oct;54(4):458–467. doi: 10.1002/uog.20383. Epub 2019 Sep 3. PMID: 31237735.
3. Borrell A. A new comprehensive paradigm for prenatal diagnosis: seeing the forest through the trees. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018 Nov;52(5):563–568. doi: 10.1002/uog.19035. PMID: 29484739.
4. Drury S, Williams H, Trump N, Boustred C, GOSGene, Lench N, Scott RH, Chitty LS. Exome sequencing for prenatal diagnosis of fetuses with sonographic abnormalities. *Prenat Diagn*. 2015 Oct;35(10):1010–7. doi: 10.1002/pd.4675. Epub 2015 Sep 11. PMID: 26275891.
5. Gou L, Fang Y, Wang N, Zhang M, Liu T, Wang Y, Hu S, Zhang Y, Wu Q, Wang Y, Suo F, Gu M. Clinical management of pregnancies with positive screening results for rare autosomal aneuploidies at a single center. *J Int Med Res*. 2020 Nov;48(11):300060520966877. doi: 10.1177/0300060520966877. PMID: 33167762; PMCID: PMC7658522.
6. Gurbich TA, Ilinsky VV. ClassifyCNV: a tool for clinical annotation of copy-number variants. *Sci Rep*. 2020 Nov 23;10(1):20375. doi: 10.1038/s41598-020-76425-3. PMID: 33230148; PMCID: PMC7683568.
7. Levy B, Burnside RD. Are all chromosome microarrays the same? What clinicians need to know. *Prenat Diagn*. 2019 Feb;39(3):157–164. doi: 10.1002/pd.5422. Epub 2019 Feb 10. PMID: 30673135.
8. Ramdaney A, Hoskovec J, Harkenrider J, Soto E, Murphy L. Clinical experience with sex chromosome aneuploidies detected by noninvasive prenatal testing (NIPT): Accuracy and patient decision-making. *Prenat Diagn*. 2018 Oct;38(11):841–848. doi: 10.1002/pd.5339. Epub 2018 Aug 15. PMID: 30068017.
9. van den Veyver IB, Eng CM. Genome-Wide Sequencing for Prenatal Detection of Fetal Single-Gene Disorders. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2015 Aug 7;5(10):a023077. doi: 10.1101/cshperspect.a023077. PMID: 26253094; PMCID: PMC4588135.