

SÀNG LỌC TRƯỚC SINH DỰA TRÊN BIỂU HIỆN GEN: TỪ HÌNH THÁI GIẢI PHẪU ĐẾN CHỨC NĂNG THAI KỲ

TS. BS. Lâm Đổ Phương Uyên

Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch

Xét nghiệm sàng lọc trước sinh thường chủ yếu dựa vào hình ảnh để xác định hình thái của thai nhi, được xác định chủ yếu bằng siêu âm hoặc chụp cộng hưởng từ. Thông qua siêu âm có thể xác định được khả năng sống của thai nhi, tuổi thai và sự hiện diện của các cặp song sinh hoặc sinh ba. Ngay từ quý đầu tiên của thai kỳ, sự hiện diện của các dị tật bẩm sinh có thể được phát hiện. Tuy nhiên, sự hiện diện của các dị tật thông qua siêu âm đã thúc đẩy các xét nghiệm sàng lọc, thông qua việc kiểm tra thông tin di truyền, chẳng hạn như DNA tự do (cell-free DNA – cfDNA) lưu thông tự do trong huyết tương của người mẹ, chọc dò nước ối và lấy mẫu nhung mao màng đệm, để xác định karyotype của thai nhi. Việc sàng lọc bằng cách kiểm tra thông tin di truyền, có khả năng xác định chính xác những thai kỳ cần theo dõi chặt chẽ và những thai nhi cần được sinh ra trong những cơ sở chăm sóc y tế đặc biệt.

SỰ PHÁT TRIỂN CỦA THAI NHI VÀ THAI KỲ

Sự hiện diện của RNA thai nhi tuần hoàn trong huyết tương của người mẹ lần đầu tiên được chứng minh vào năm 2000. Các nghiên cứu ban đầu tập trung vào việc phát hiện các bảng dịch mã độc nhất của thai nhi, chẳng hạn như gen SRY hoặc các gen biểu hiện cụ thể ở bánh nhau (Bianchi, 2021). Sự biểu hiện gen ở thai nhi và bánh nhau được xem là dấu ấn sinh

học cho sự phát triển điển hình của thai nhi. Một nghiên cứu so sánh sự biểu hiện gen từ mẫu máu của phụ nữ mang thai và máu cuống rốn của trẻ được thực hiện bởi Maron và cộng sự (2007) đã kết luận thông tin di truyền có trong các mẫu trước sinh của mẹ và mẫu trẻ sơ sinh, nhưng không có trong các mẫu máu sau sinh của mẹ. 71 dấu ấn sinh học được tìm thấy trong ít nhất 7/10 mẫu có nguồn gốc từ các mô của phôi thai và bánh nhau. Các gen này đã được xác nhận thông qua phương pháp RT-PCR và phân tích điểm đa hình đơn nucleotide, đều cho thấy liên quan đến quá trình phát triển của thai nhi, hoặc có liên quan đến phản ứng sinh lý của trẻ sơ sinh. Đặc biệt, các bản sao ở thai nhi thường được nhận dạng phổ biến hơn trong mẫu máu toàn phần của mẹ, trong khi các bản sao ở bánh nhau phổ biến hơn trong huyết tương của mẹ.

SINH NON TỰ PHÁT

Các bản phiên mã cfRNA tuần hoàn được giải phóng từ các tế bào mô trong quá trình apoptotic và hoại tử cũng như các exosome và microvesicle. Trong mẫu máu của phụ nữ mang thai, cfRNA có số lượng thấp, bị phân mảnh và trộn lẫn với RNA ribosome và globin. Năm 2014, phương pháp giải trình tự song song đã được ứng dụng để cải thiện việc phát hiện các chuỗi mRNA từ bào thai và bánh nhau (Bianchi, 2021; Koh và cs., 2014). Các hình thức biểu hiện gen theo thời gian khác biệt ở bánh nhau, não thai

nhi, gan và hồng cầu đã được thể hiện rõ ràng thông qua bảng mô tả. Để xác thực những dữ liệu này và áp dụng chúng vào sàng lọc trước khi sinh, các dấu ấn sinh học được đánh giá hàng tuần ở 31 phụ nữ mang thai khỏe mạnh nhằm xác định sự biểu hiện của các gen mục tiêu ở các tuổi thai khác nhau (Ngo và cs., 2018). Phản ứng multiplex PCR được thực hiện để theo dõi 51 bản sao thông tin di truyền được biểu hiện ở bánh nhau, gan thai nhi hoặc hệ thống miễn dịch. Sự biểu hiện của 9 phiên bản di truyền ở bánh nhau có mối tương quan với thời gian từ lúc mang thai cho đến khi sinh. Các tác giả cũng truy vấn cùng một mô hình để đưa ra khả năng sinh non tự phát, thông qua nghiên cứu trên một nhóm thuần tập thứ hai gồm những phụ nữ mang thai có nguy cơ sinh non cao. Có 7/38 mẫu cfRNA được phân tách từ mẫu huyết tương của thai phụ xác định chính xác 3/4 số phụ nữ sinh non, thậm chí 2 tháng trước khi sinh.

TIỀN SẢN GIẬT VÀ ĐÁI THÁO ĐƯỜNG THAI KỲ

Một biến chứng chính khác của thai kỳ là khởi phát sớm tiền sản giật nặng, được đặc trưng bởi tăng huyết áp, suy nhau thai, rối loạn chức năng gan và thận ở thai phụ, và hạn chế sự phát triển của thai nhi. Gần đây, Munchel và cộng sự (2020) đã thực hiện giải trình tự cfRNA trên 40 thai phụ bị tiền sản giật nặng và so sánh kết quả với 70 thai phụ khỏe mạnh làm đối chứng sau khi điều chỉnh 2 nhóm phù hợp với tuổi thai. Kết quả phát hiện 30 bản dịch mã di truyền được biểu hiện trên mô phù hợp với các bất thường về hệ miễn dịch và tim mạch của người mẹ, rối loạn chức năng nhau thai và sự phát triển bất thường của thai nhi. Trong đó, 20% gen rối loạn điều hòa mã hóa cho các protein tạo mạch góp phần vào chứng rối loạn đa cơ quan này. Áp dụng kỹ thuật machine learning vào một nhóm nghiên cứu thuần tập độc lập gồm 12 phụ nữ bị tiền sản giật và 12 đối chứng đã phân tích 49 bản dịch mã gen và đã tiên đoán được tình huống lâm sàng với độ chính xác 85 – 89%.

Trong một nghiên cứu dọc về những thai phụ gặp phải các kết cục bất lợi trong thai kỳ, sự biểu hiện của 71 gen khác nhau đã được xác định (Del Vecchio và cs., 2020). Những gen này có thể dự đoán tiên sản giật chính xác hơn so với bệnh đái tháo đường thai kỳ, mặc dù phụ nữ mắc đái tháo đường thai kỳ có tỷ lệ phân bố cfRNA từ tủy xương của người mẹ cao hơn so với phụ nữ không mắc đái tháo đường thai kỳ.

HẠN CHẾ SỰ TĂNG TRƯỞNG CỦA THAI NHỊ

Thai nhi bị hạn chế tăng trưởng thường được theo dõi bằng siêu âm nối tiếp. Một số ít bào thai bị hạn chế tăng trưởng phát triển thành chứng nhiễm toan máu do rối loạn chức năng nhau thai. Điều này có thể dẫn đến tử vong cho thai nhi mà không có dấu hiệu báo trước. Hannan và cộng sự (2020) đã thu thập các mẫu máu ngoại vi trong vòng 2 giờ sau khi sinh mổ lấy thai thiếu tháng (<34 tuần) ở 128 phụ nữ có trọng lượng khi sinh của thai nhi <10% so với trọng lượng cơ bản phù hợp với tuổi thai. Bằng cách so sánh với các đối chứng thích hợp, Hannan đã phát hiện 5 bản dịch mã gen biểu hiện khác biệt ở những thai nhi bị hạn chế về tăng trưởng, 3 trong 5 bản dịch mã này là dấu ấn sinh học cho thai chết lưu. Hai bản dịch mã gen NR4A2 và RCBTB2 tiên lượng sự rối loạn điều hòa dẫn đến chứng nhiễm toan máu ở thai nhi. Trong khi EMP1 luôn được đồng nhất với rối loạn chức năng nhau thai.

BỆNH TRUYỀN NHIỄM TRONG THAI KỲ

Trong các nghiên cứu khác, cfRNA được ứng dụng để sàng lọc bệnh truyền nhiễm do virus gây ra trong thai kỳ (Pan và cs., 2017). Mặc dù không xác định được các triệu chứng lâm sàng, 1 trong số 60 phụ nữ mang thai có nhiều mẫu bệnh phẩm ứng với nhiễm trùng parvovirus B19. Đồng thời, nghiên cứu cũng phát hiện được sự biểu hiện của các gen kháng viêm và kháng vi sinh vật do nhiễm trùng trong thai kỳ.

Bảng 1.

Dấu ấn sinh học	Chức năng	Nguồn	Tài liệu tham khảo
DHRS3, NRL	Nhận thức thị giác của thai nhi	Máu toàn phần	Maron và cs., 2007
NRG1	Sự phát triển não bộ của thai nhi	Máu toàn phần	Maron và cs., 2007
CALCB, DCX, DLX2, FABP7, FOXG1, GNAZ, MEF2C, MN1, NPY1R, NTSR1, SATB2, ZNF238	Sự phát triển não bộ của thai nhi	Huyết tương	Koh và cs., 2014
ALPP, CAPN6, CGA, CGB, PAPP, CSHL1, GALS14, PLAC4, PSG7	Dự đoán tuổi thai khi sinh	Huyết tương	Ngo và cs., 2018
CLCN3, DAPP1, PPBP, MAP3K7CL, MOB1B, RAB27B, RGS18	Dự đoán sinh non	Huyết tương	Ngo và cs., 2018
PGM5, EMP1, NR4A2, SKIL, UGT2B1	Hạn chế tăng trưởng của thai nhi	Máu toàn phần	Hannan và cs., 2020
NR4A2, EMP1, RCBTB2	Dự đoán thai lưu	Máu toàn phần	Hannan và cs., 2020

Bảng 1 tổng hợp các gen biểu hiện có thể dùng làm các dấu ấn sinh học dùng trong sàng lọc trước sinh nhằm phát hiện các biến chứng bất lợi trong thai kỳ. Các gen có liên quan đến sự phát triển thần kinh chiếm gần một nửa và có thể dùng làm cơ sở để phát hiện các bất thường liên quan đến thai nhi.

KẾT LUẬN

Ứng dụng cfRNA trong dự đoán các biến chứng của thai kỳ hiện là một lĩnh vực nghiên cứu tích cực đang được quan tâm và phát triển mở rộng. Lợi thế của việc sử dụng cfRNA làm dấu ấn sinh học bao gồm tính ổn định. Không giống như cfDNA lưu hành, cfRNA dường như không bị ảnh hưởng bởi chỉ số khối cơ thể mẹ (BMI). Tuy nhiên, một trong những rào cản lớn đối với ứng dụng cfRNA trong lâm sàng là hầu hết các nghiên cứu đều được thực hiện nhỏ lẻ và các nhóm thuần tập không đa dạng.

Các nghiên cứu được đề cập trên đây đã chứng minh khả năng tiên đoán và hứa hẹn của việc sử dụng cfRNA để phát hiện các biến chứng thai kỳ. Cách tiếp cận này rất khả thi và sẽ là một bước tiến đáng kể trong y sinh phân tử. Việc kết hợp hình thái thai nhi trong thai kỳ và biểu hiện gen cũng như đánh giá "chức năng" song song với "hình thái" trong sàng lọc trước

sinh có thể cho phép phát hiện sớm các biến cố bất lợi trong thai kỳ, nhằm giúp các cơ sở y tế tiếp cận, theo dõi, và có phương pháp điều trị kịp thời đối với các thai kỳ có nguy cơ cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bianchi DW. Function Follows Form: Gene Expression and Prenatal Screening. *Trends Mol Med.* 2021 Aug;27(8):725 – 727. doi: 10.1016/j.molmed.2021.06.001. Epub 2021 Jun 23. PMID: 34175229.
- Del Vecchio G, Li Q, Li W, Thamocharan S, Tosevska A, Morselli M, Sung K, Janzen C, Zhou X, Pellegrini M, Devaskar SU. Cell – free DNA Methylation and Transcriptomic Signature Prediction of Pregnancies with Adverse Outcomes. *Epigenetics.* 2021 Jun;16(6):642 – 661. doi: 10.1080/15592294.2020.1816774. Epub 2020 Oct 13. PMID: 33045922; PMCID: PMC8143248.
- Hannan NJ, Stock O, Spencer R, Whitehead C, David AL, Groom K, Petersen S, Henry A, Said JM, Seeho S, Kane SC, Gordon L, Beard S, Chindera K, Karegodar S, Hiscock R, Pritchard N, Kaitu'u – Lino TJ, Walker SP, Tong S. Circulating mRNAs are differentially expressed in pregnancies with severe placental insufficiency and at high risk of stillbirth. *BMC Med.* 2020 May 22;18(1):145. doi: 10.1186/s12916 – 020 – 01605 – x. PMID: 32438913; PMCID: PMC7243334.
- Koh W, Pan W, Gawad C, Fan HC, Kerchner GA, Wyss – Coray T, Blumenfeld YJ, El – Sayed YY, Quake SR. Noninvasive in vivo monitoring of tissue – specific global gene expression in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014 May 20;111(20):7361 – 6. doi: 10.1073/pnas.1405528111. Epub 2014 May 5. Erratum in: *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014 Jul 29;111(30):11223. PMID: 24799715; PMCID: PMC4034220.
- Maron JL, Johnson KL, Slonim D, Lai CQ, Ramoni M, Alterovitz G, Jarrah Z, Yang Z, Bianchi DW. Gene expression analysis in pregnant women and their infants identifies unique fetal biomarkers that circulate in maternal blood. *J Clin Invest.* 2007 Oct;117(10):3007 – 19. doi: 10.1172/JCI29959. PMID: 17885688; PMCID: PMC1978418.
- Munchel S, Rohrbach S, Randise – Hinchliff C, Kinnings S, Deshmukh S, Alla N, Tan C, Kia A, Greene G, Leety L, Rhoa M, Yeats S, Saul M, Chou J, Bianco K, O'Shea K, Bujold E, Norwitz E, Wapner R, Saade G, Kaper F. Circulating transcripts in maternal blood reflect a molecular signature of early – onset preeclampsia. *Sci Transl Med.* 2020 Jul 1;12(550):eaaz0131. doi: 10.1126/scitranslmed.aaz0131. PMID: 32611681.
- Ngo TTM, Moufarrej MN, Rasmussen MH, Camunas – Soler J, Pan W, Okamoto J, Neff NF, Liu K, Wong RJ, Downes K, Tibshirani R, Shaw GM, Skotte L, Stevenson DK, Biggio JR, Elovitz MA, Melbye M, Quake SR. Noninvasive blood tests for fetal development predict gestational age and preterm delivery. *Science.* 2018 Jun 8;360(6393):1133 – 1136. doi: 10.1126/science.aar3819. PMID: 29880692; PMCID: PMC7734383.
- Pan W, Ngo TTM, Camunas – Soler J, Song CX, Kowarsky M, Blumenfeld YJ, Wong RJ, Shaw GM, Stevenson DK, Quake SR. Simultaneously Monitoring Immune Response and Microbial Infections during Pregnancy through Plasma cfRNA Sequencing. *Clin Chem.* 2017 Nov;63(11):1695 – 1704. doi: 10.1373/clinchem.2017.273888. Epub 2017 Sep 13. PMID: 28904056.