

XÉT NGHIỆM DI TRUYỀN TRƯỚC LÀM TỔ:

Từ phòng xét nghiệm tới thực hành lâm sàng

Ths. Bs Quách Thị Hoàng Oanh

Phó khoa XNDTYH – Bệnh viện Từ Dũ



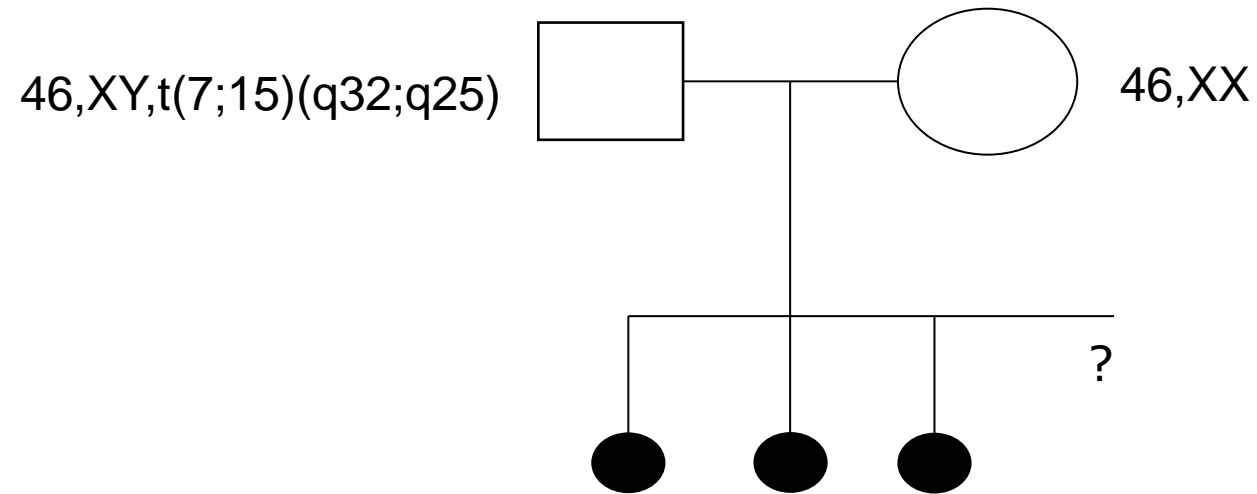
HỘI NGHỊ SẢN PHỤ KHOA LẦN THỨ
VIỆT - PHÁP - CHÂU Á
THÁI BÌNH DƯƠNG



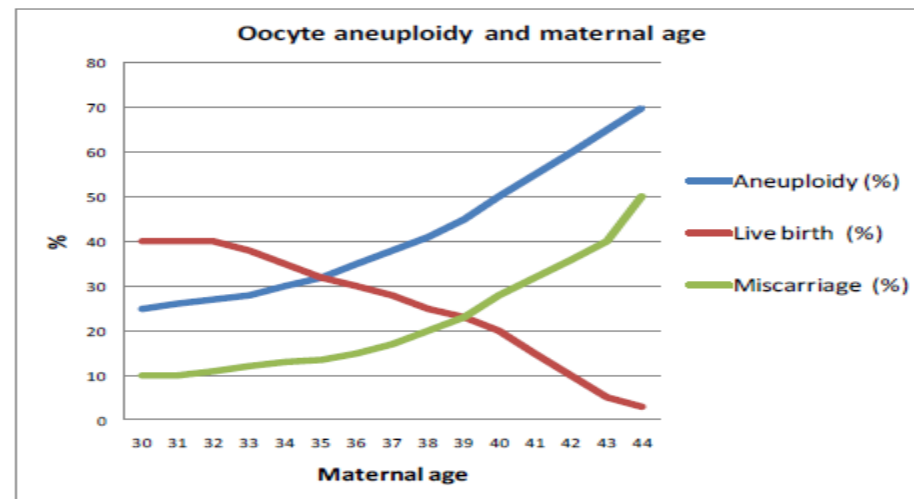
Sảy thai liên tiếp



- Bất thường nhiễm sắc thể

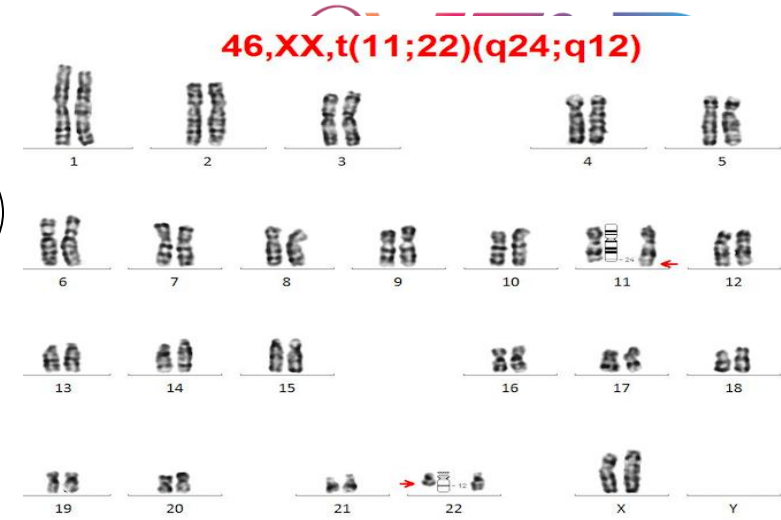
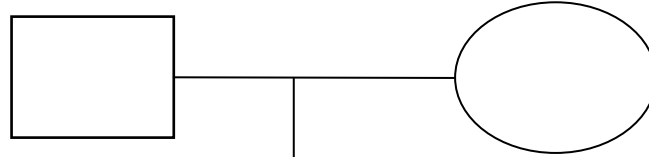


- Lịch bội NST-IVF thất bại nhiều lần

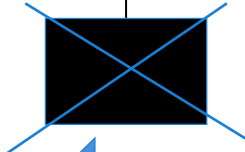


Dị tật bẩm sinh

46,XY

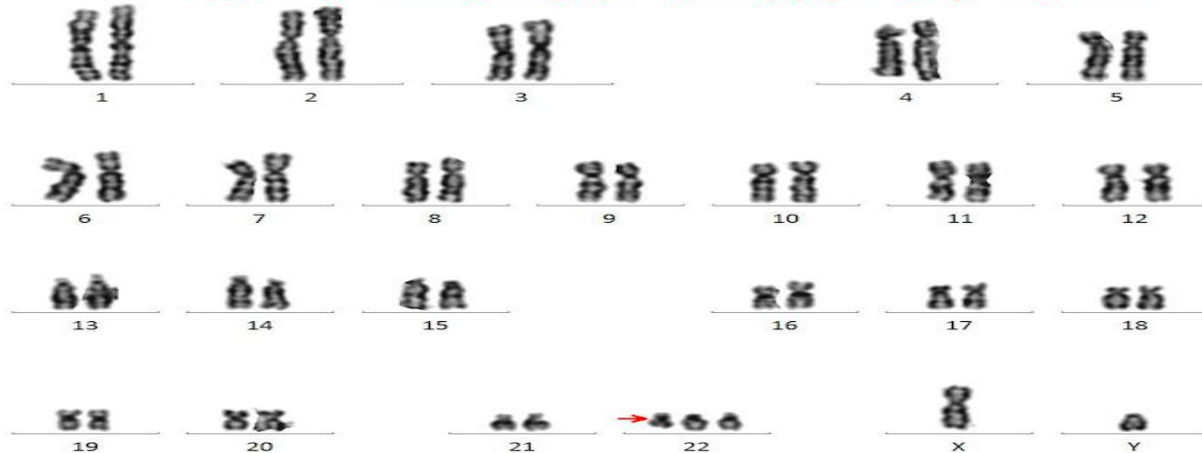


Thai 18 tuần
Sứt môi – Chẻ vòm

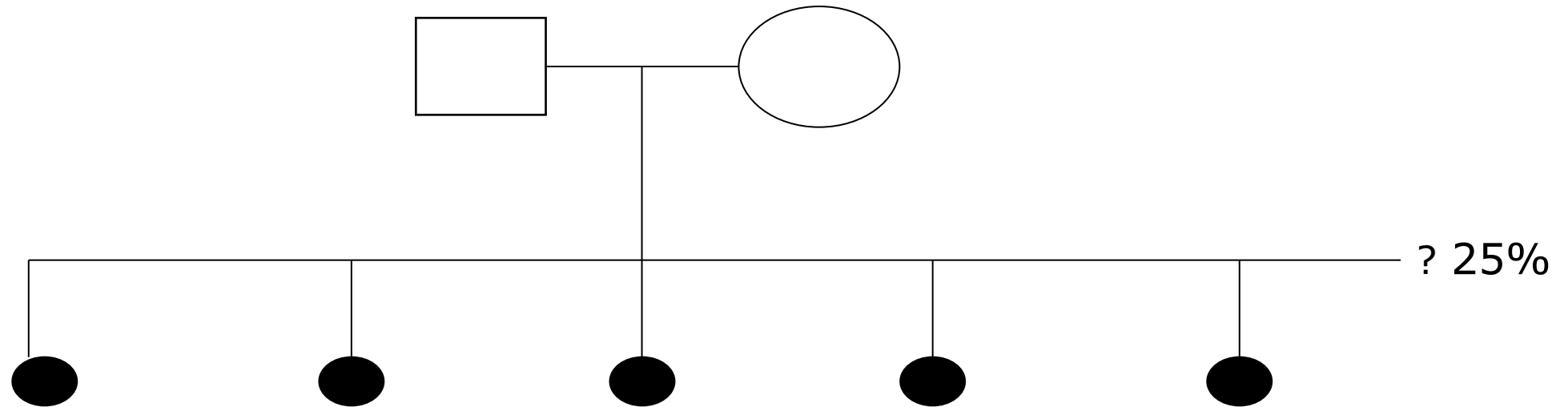


Pierre Robin Sequence

47,XY,+der(22)t(11;22)(q24;q12)mat



Hb Bart's – Phù thai



Vợ: alpha zero thalassemia ($--SEA/\alpha\alpha$)

Chồng: alpha zero thalassemia ($--SEA/\alpha\alpha$)



Xét nghiệm di truyền trước làm tổ

Preimplatation Genetic Testing (PGT)



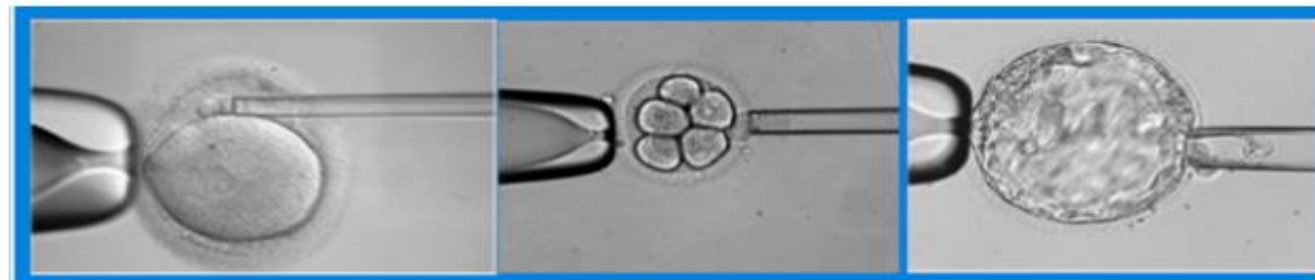
Kỹ thuật xác định những bất thường về mặt gen di truyền ở các phôi (± thể cực của trứng) được tạo ra qua quá trình thụ tinh ống nghiệm trước khi chuyển phôi vào tử cung (Handyside A, 1990)



Trứng

Phôi ngày 3

Phôi nang ngày 5



Phân loại PGT

➤ PGT-A (Aneuploidy)

- Sàng lọc lệch bội nhiễm sắc thể (NST)
- Chiếm $\approx 60\%$ các trường hợp PGT

(ESHRE, 2016)

PGS

➤ PGT-SR (Structure Arrangement)

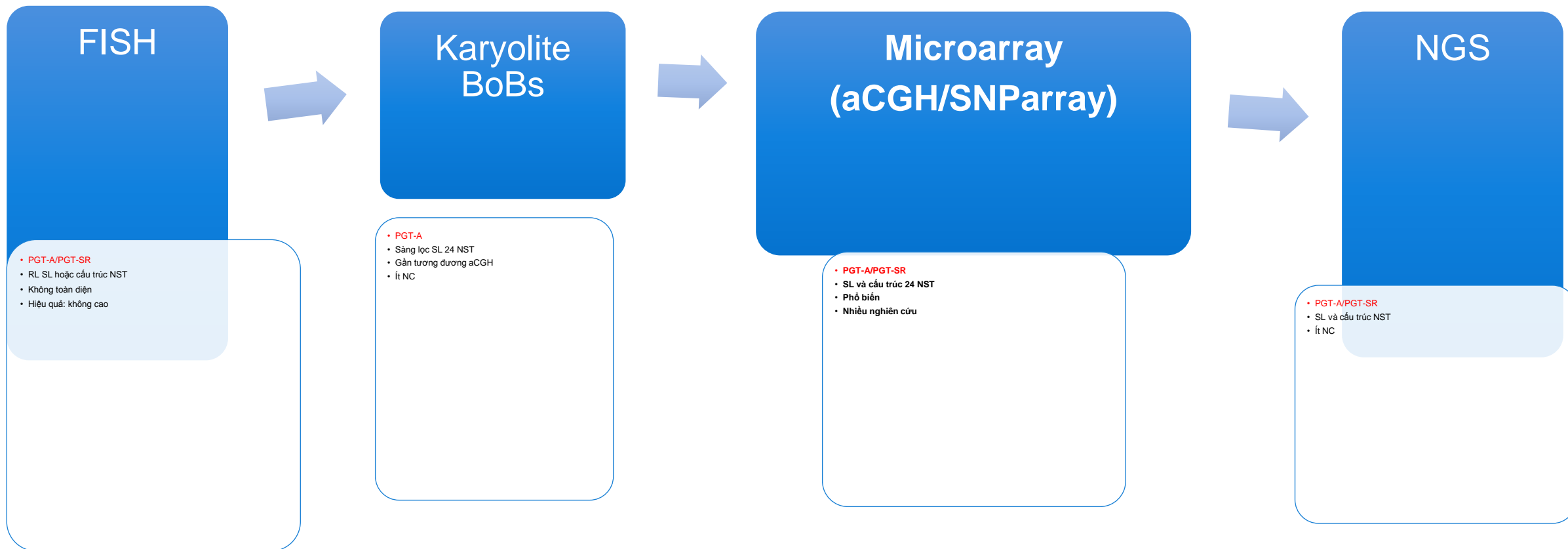
- Phát hiện bất thường cấu trúc NST (chuyển đoạn không cân bằng)
- Chọn lựa giới tính?

➤ PGT-M (Mutation)

- Phát hiện bệnh liên quan gen
- Xác định yếu tố HLA phù hợp

PGD

Khảo sát bất thường NST: PGT-A và PGT-SR



Microarray được lựa chọn phổ biến :

- Khảo sát toàn diện, chính xác ($\approx 98\%$)
- Giá cả phù hợp
- Nhiều nghiên cứu: tăng tỷ lệ làm tổ và sinh sống

Kỹ thuật PGT-M

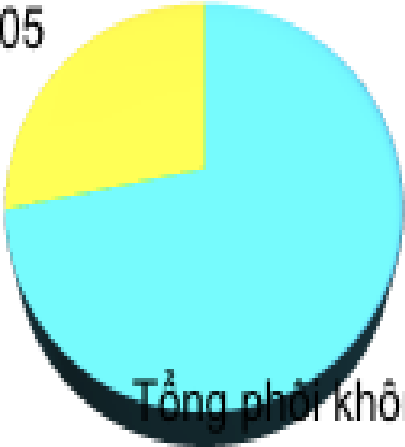
- Xác định đột biến trực tiếp: các kỹ thuật PCR
 - Giải trình tự gen
 - Minisequencing
 - Enzyme cắt giới hạn
 - Chú ý: Allele drop-out 5%
- Phân tích liên kết: khi không xác định được đột biến
 - Sử dụng đoạn ngắn lặp lại (STR)
 - SNP
 - Karyomapping

Bệnh viện Từ Dũ

- 2013: Nghiên cứu tiền cứu
- N=48 phôi N3 hiến tặng
- Phôi sống sau sinh thiết: 95.8 (46/48)
- FISH: 5 NST 13, 18, 21, X, Y.

Phôi mang bộ NST bình thường 5 cặp NST

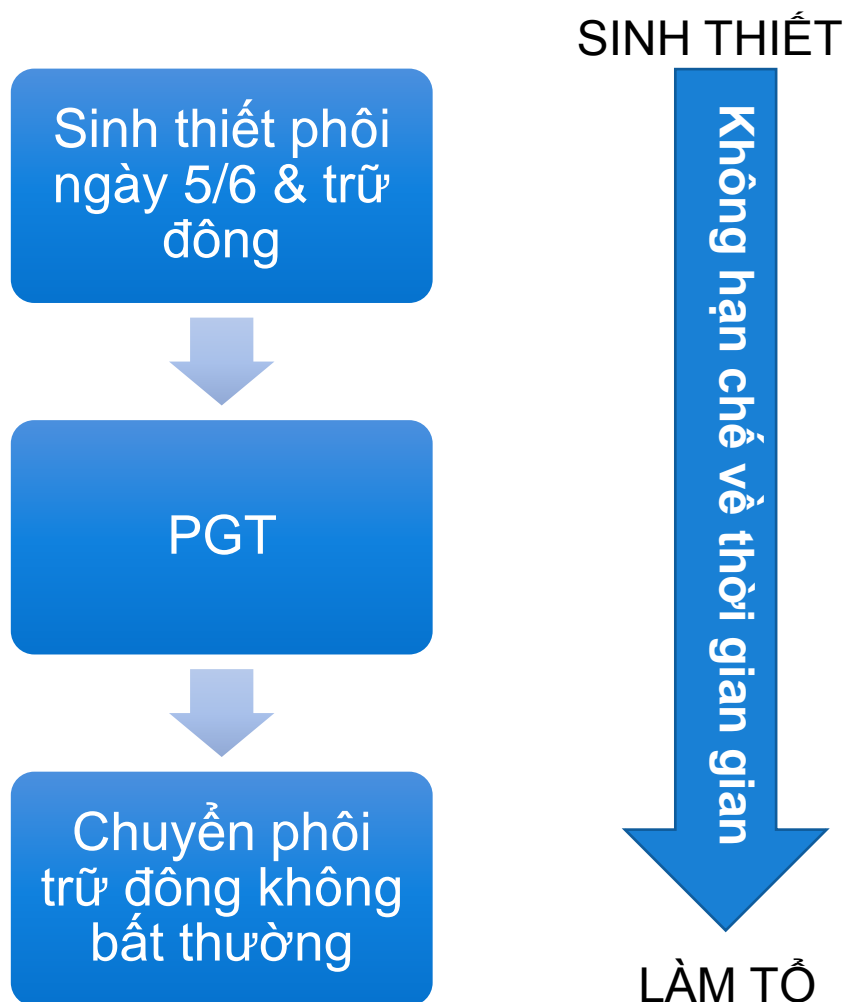
21.05



Tổng phôi không có kết quả ít nhất 1 NST
53.66

(Vũ Bích Thuy và CS, 2013)

6/2018: qui trình PGT theo xu hướng



ƯU ĐIỂM

- Tăng thời gian cho phân tích
- Tỷ lệ thành công tương đương chuyển phôi tươi
- Cơ thể, nội mạc tử cung phục hồi sau sử dụng thuốc kích trứng
- Giảm đa thai



Chỉ định PGT

➤ PGT-A:

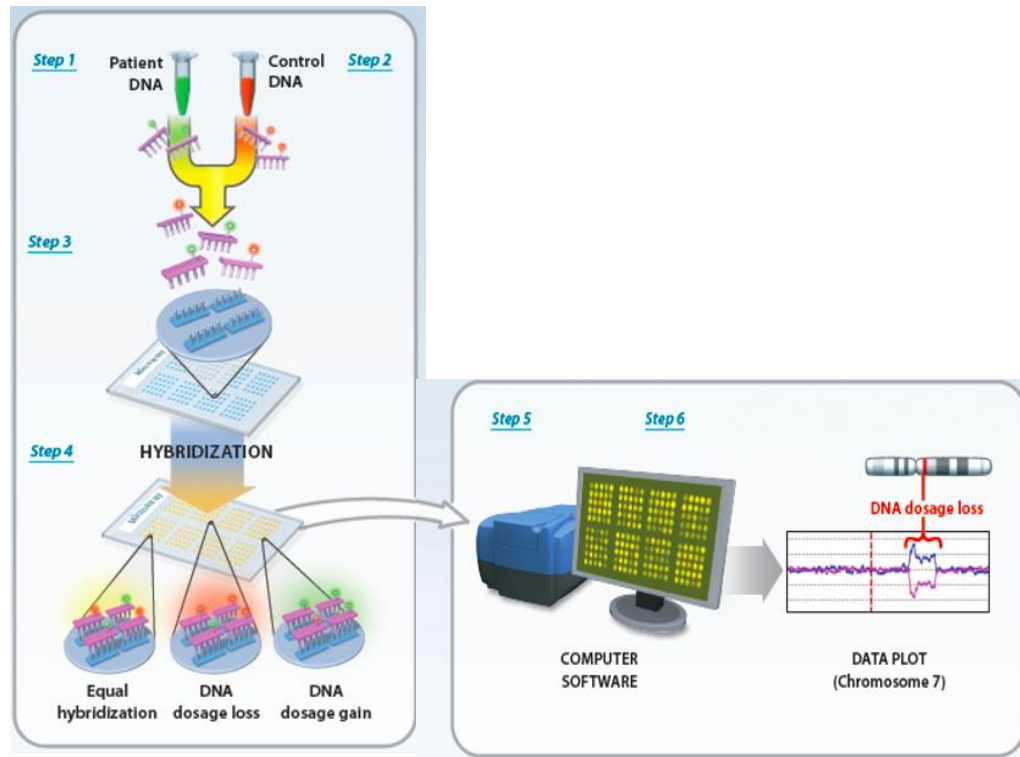
- Sảy thai liên tiếp ≥ 3 lần
- Vợ lớn tuổi (≥ 36 tuổi)
- IVF thất bại nhiều lần (≥ 3 lần)
- Chồng vô sinh nặng (mất đoạn AZF)

➤ PGT-SR: Vợ hoặc chồng bất thường cấu trúc NST

➤ PGT-M: VC mang đột biến gen: Thalassemia, FVII...

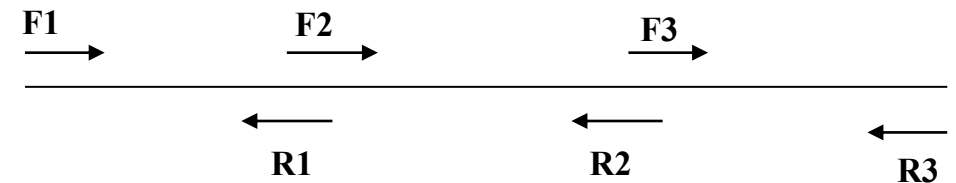
BVTD: kỹ thuật PGT sử dụng

➤ PGT-A, PGT-SR: aCGH



➤ PGT-M

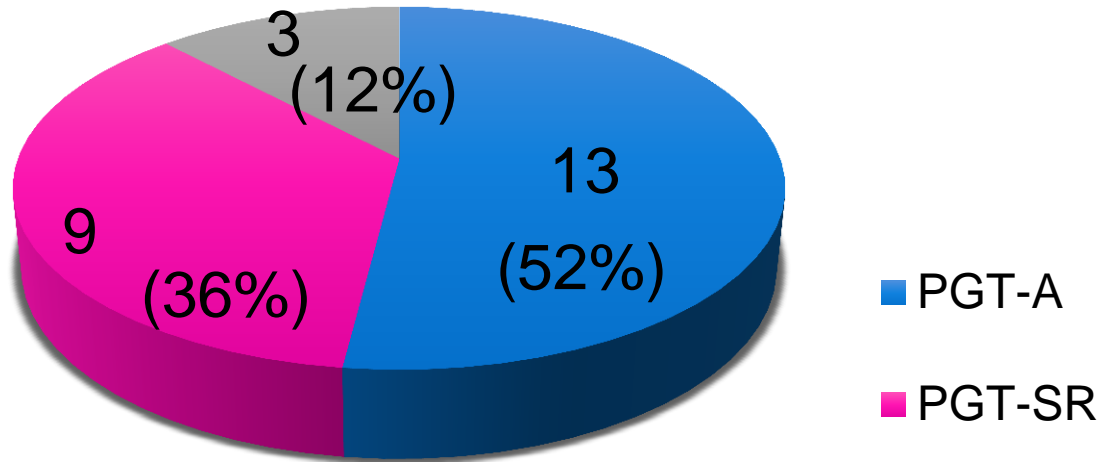
- β Thalassemia: giải trình tự gen



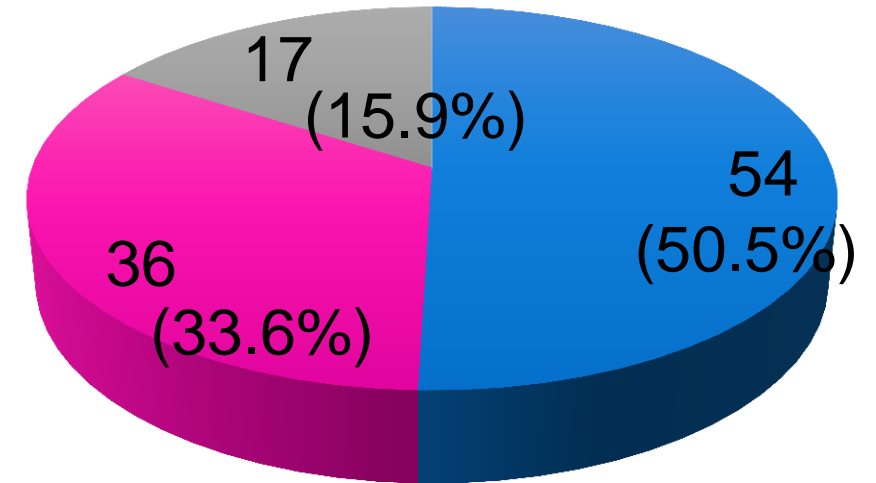
- α Thalassemia: 2 phản ứng PCR
 - Gap-PCR: phát hiện đột biến –SEA
 - PCR khuếch đại đặc hiệu gen $\alpha 2$ globin

➤ Từ 6/2018-01/2019

25 cặp vợ chồng



107 phôi N5

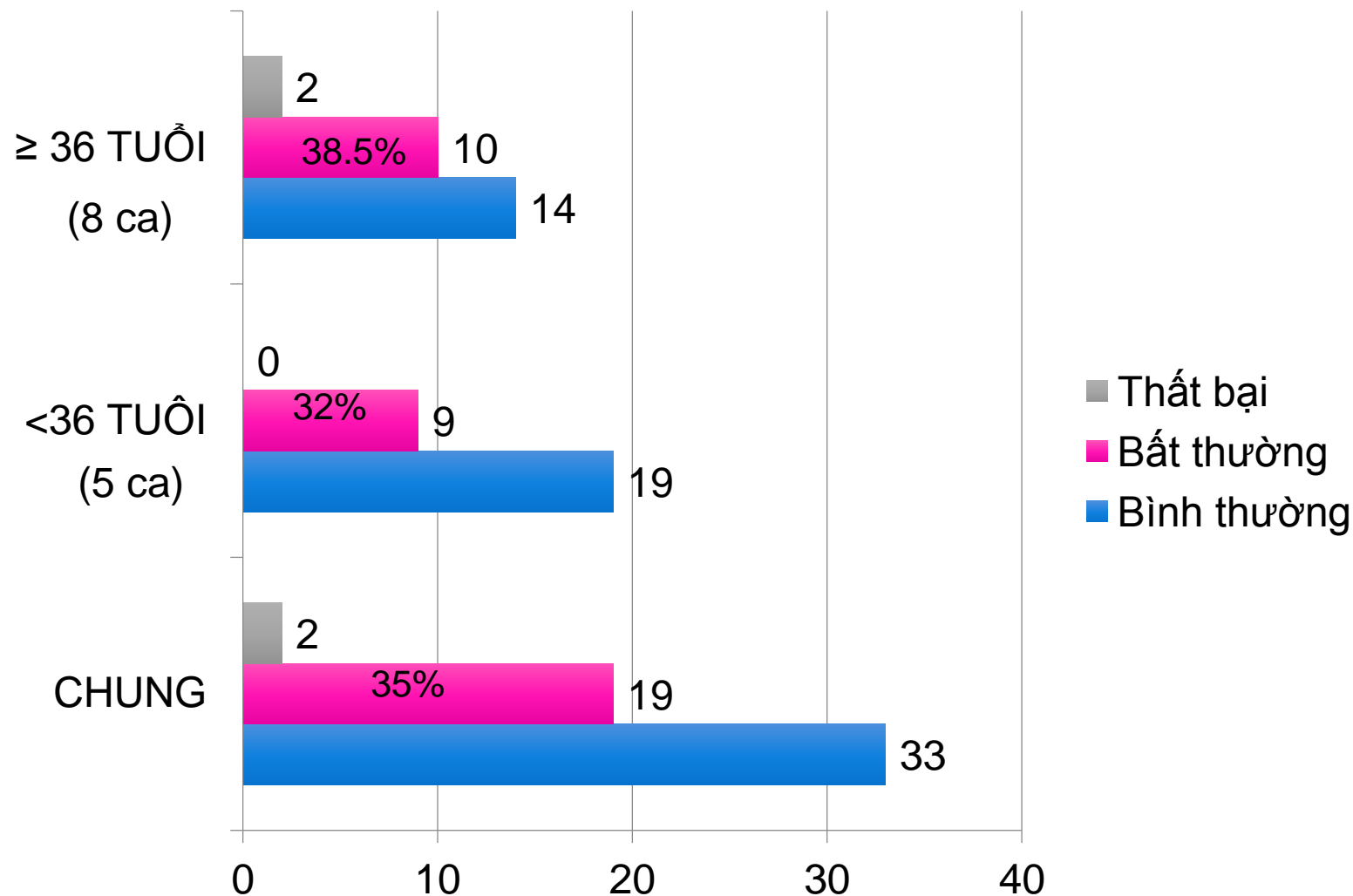


- Tuổi vợ: 24-39 tuổi
- Số phôi/cặp: 1- 8 phôi
- PGT-A: nhiều nhất, 54 phôi của 13 cặp
- PGT-M: 1 ca β Thalassemia, 2 ca α Thalassemia
- TH không có phôi bình thường: 5 (25%)
- Phôi có kết quả: 100/107 (93.5%), thất bại: 7/107 (6.5%)

Kết quả PGT-A

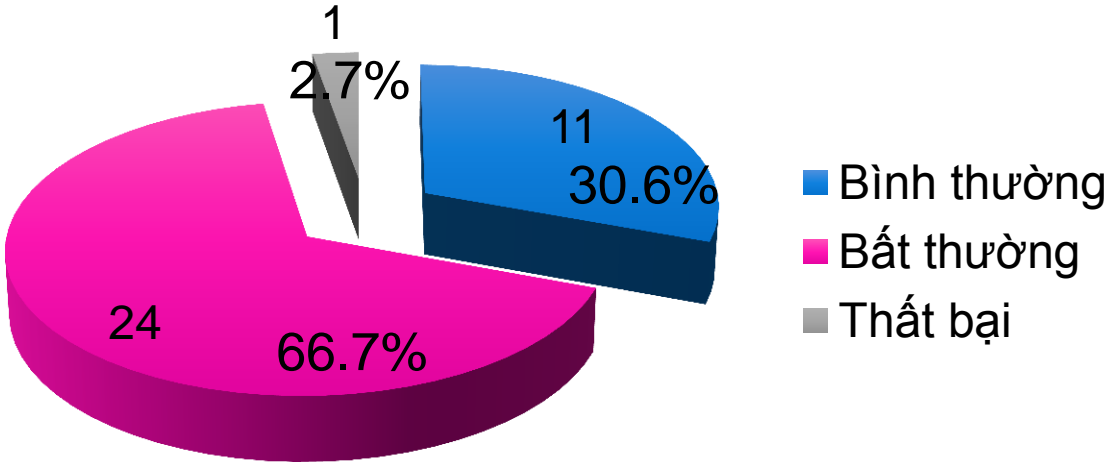


- 2/13 cặp (15%): không có phôi bình thường >36 tuổi
- Tỷ lệ phôi bình thường
N5>N3: 61% vs 21.5%
- Tỷ lệ thất bại: 4% (2/54)
- Theo tuổi: nhóm <36 tuổi:
 - Số phôi trung bình /cặp: lớn hơn (5.6 vs 3.25)
 - Tỷ lệ phôi bất thường thấp hơn: 32% vs 38.5%
(ASRM,2018: 31-44.9%)



Kết quả PGT-SR

- Số phôi trung bình: 4/cặp
- Phôi bất thường: cao 66.7%
- 3/9 cặp (33.3%) không có phôi bình thường: 1 cặp cả 2 vợ chồng đều mang rối loạn cấu trúc NST → Xin trứng/tinh trùng?



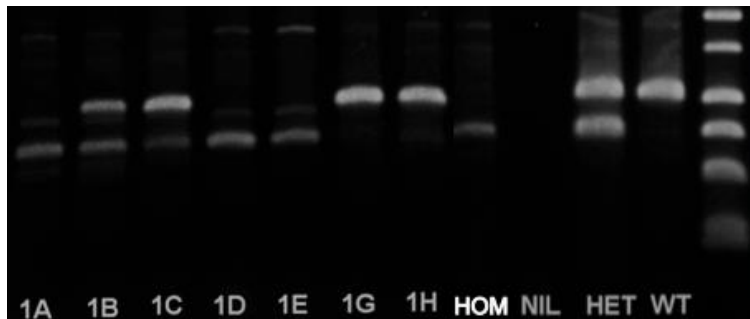
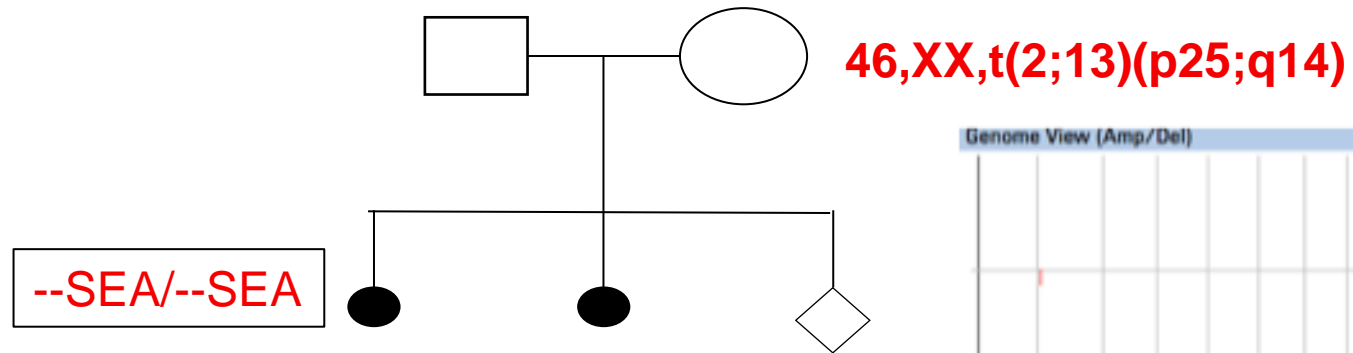
Kết quả PGT-M+A



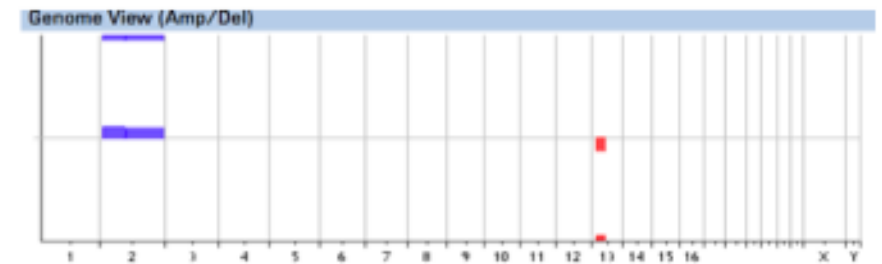
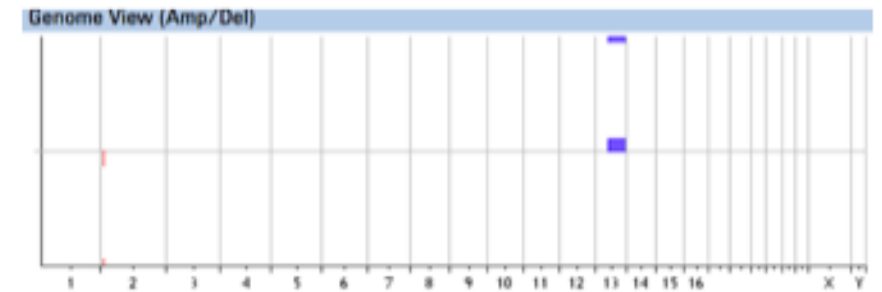
MÃ SỐ	PGT-A/SR	PGT-M	KẾT QUẢ	
18019	A	Thất bại	Thất bại	
	B	Thất bại	Thất bại	
	C	Bình thường	WT	BÌNH THƯỜNG
	D	22x4	CD95	4 NST 4; Mang gen β Thalassemia
	E	16x1	HbE	1 NST 16; Mang gen β Thalassemia
	G	9x3	CD95	3 NST 3; Mang gen β Thalassemia
	H	19x3	WT	3 NST 19; Mang gen β Thalassemia
	1901	A	13x3	SEA/SEA
B		Bình thường	SEA/WT	Bình thường NST; Mang gen α Thalas
C		Gain(2),Loss(13)	SEA/WT	Nhân đoạn NST2, mất đoạn NST13; Mang gen α Thalas
D		Gain(2),Loss(13)	SEA/SEA	Nhân đoạn NST2, mất đoạn NST13; Hb Bart's
E		Gain(2),Loss(13)	SEA/SEA	
G		Loss(13)	WT	Mất đoạn NST 13; Không mang gen
H		Loss(2),Gain(13)	WT	Mất đoạn NST2, nhân đoạn13; Không mang gen
1902		A	Bình thường	WT
	B	(1,15,21)x3,(9q)x3	WT	3 NST 1,15,21,9q; Không mang gen
	C	20x3	SEA/SEA	3 NST 20; Hb Bart's

- Cả 3 TH đều có phôi chuyển
 - PGT-A/SR: 70% (12/17) phôi bất thường
 - PGT-M:
 - 23.5% (4/17): phôi đồng hợp tử
 - 29% (5/17): phôi mang gen
- Tỷ lệ phôi bất thường NST/phôi PGT-M không bệnh: 8/11 (73%) (ASRM,2018: 50%)
- Nên tư vấn PGT-A cùng với PGT-M cho các TH bệnh gen

➤ PGT-SR: chỉ định tình cờ cho cặp vợ chồng mang gen α_0 Thalassemia--SEA



(Kết quả PGT-M)



(kết quả PGT-A)

- Nên chỉ định Karyotype cho các cặp VC PGT-M?

Kết quả



107 phôi: sống sau sinh thiết
20/25 TH có phôi bình thường
14 TH đã chuyển phôi
6 TH chưa chuyển phôi

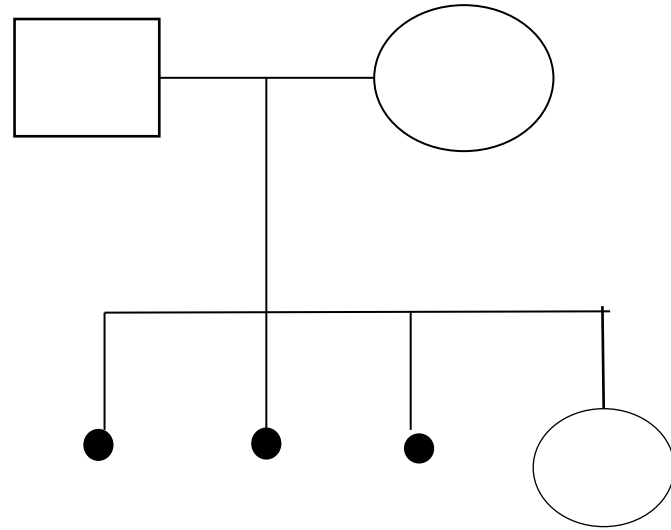
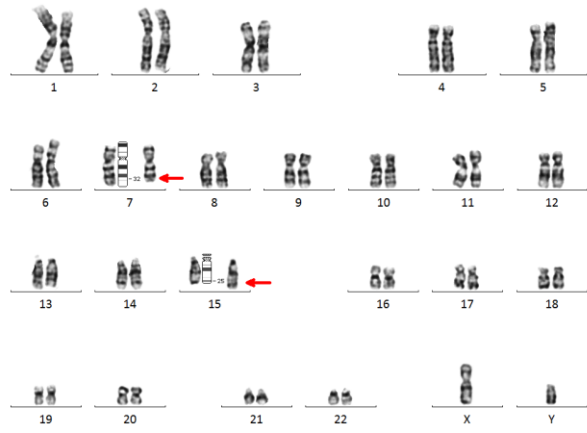


10 TH mang thai
1 TH đang giai đoạn thử
thai
3 TH thất bại

- Tỷ lệ phôi sống sau sinh thiết N5 > N3 (100% vs 95.8%)
- TH chưa chuyển phôi: 1 phôi bình thường

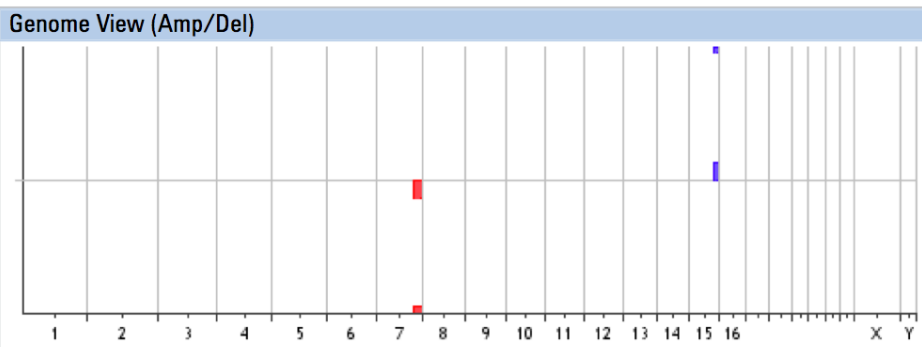
- 1 TH đã sinh con bình thường
- Tỷ lệ mang thai: cao 71.5% vs 47% (tỷ lệ mang thai chuyển phôi trữ tại BVTĐ); ASRM 2018: 69.1%
- 1 TH chuyển phôi 2 lần thất bại: vợ Trisomy X khảm → mang thai hộ?

46,XY,t(7;15)(q32;q25)

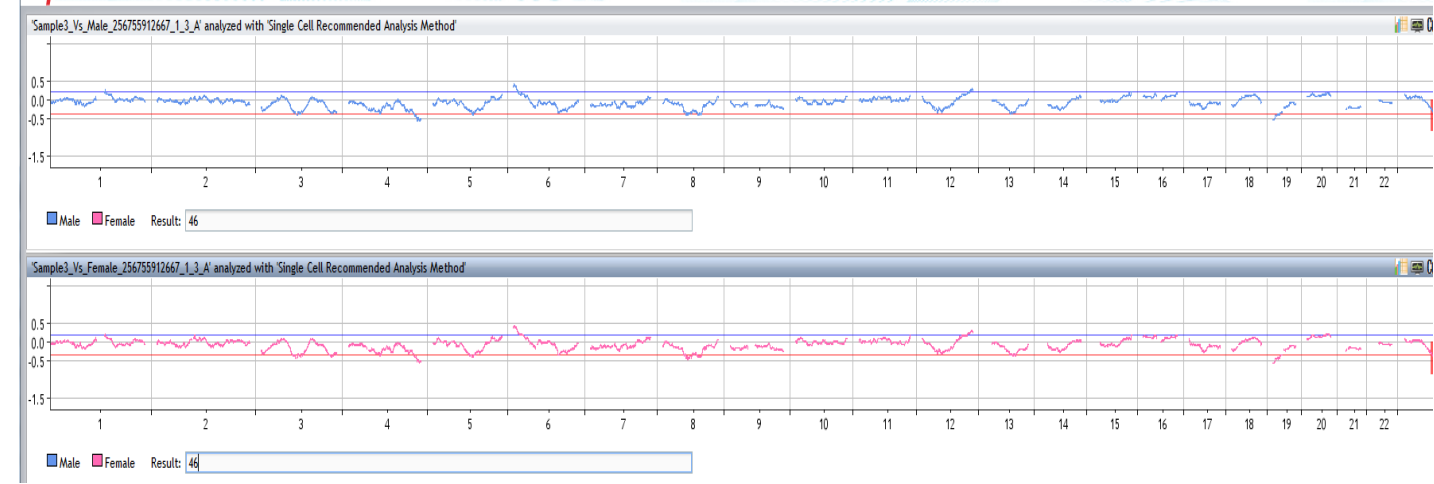


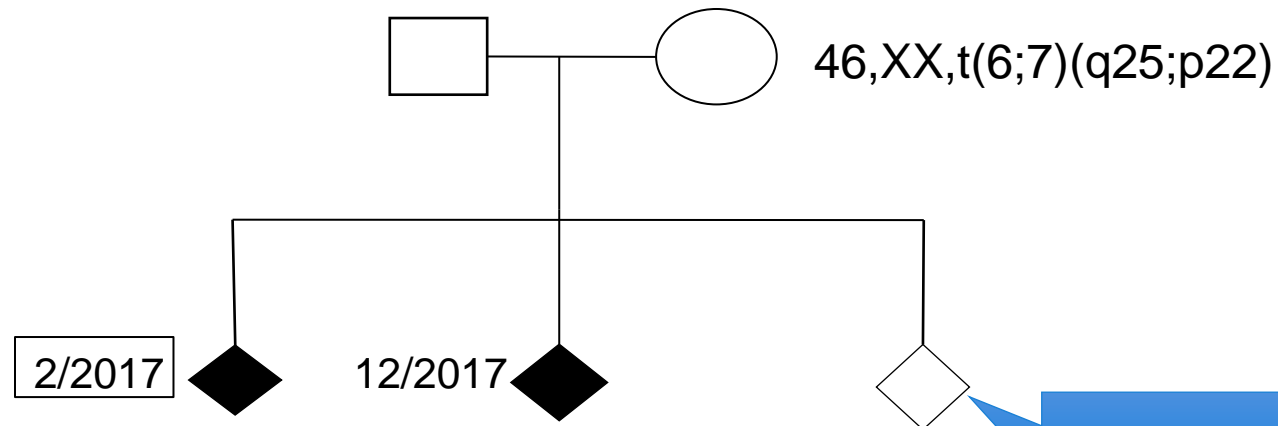
- PGT-SR: 3/8 phôi bình thường
- Chuyển phôi bình thường: 8/2018
- Sinh bé gái khỏe mạnh: 27/4/2019

Embryo ID : E1805B
DOB Patient : 01/06/1992
SignedOff by : XNDT-N-F3-R4C8\hp



(phôi mất đoạn NST 7q, nhận NST 15q)



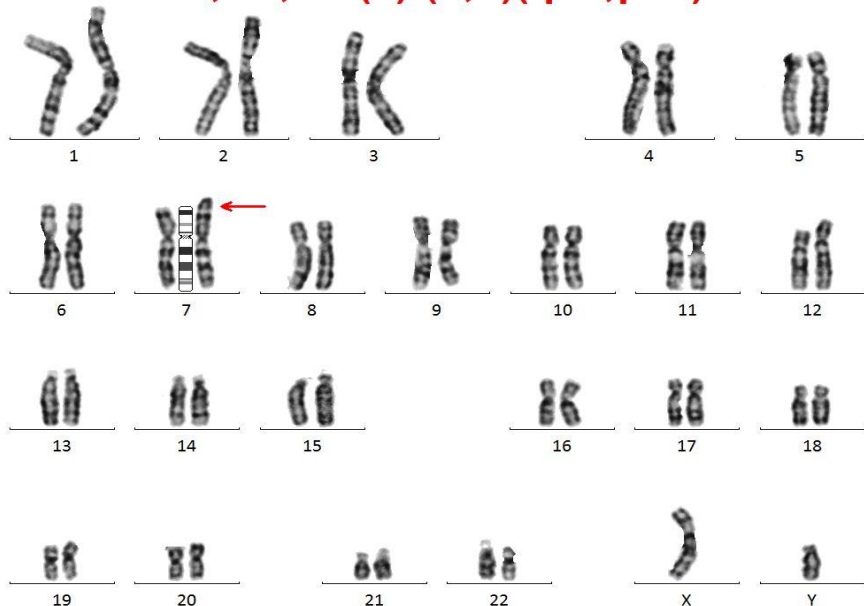


Siêu âm 10/5: thai 31 tuần 3 ngày, chưa phát hiện bất thường

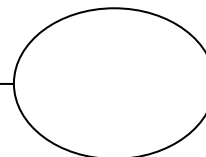
➤ Thai lần 1 và 2:

Siêu âm: Da gáy dày, bất sản xương mũi

46,XY,der(7)t(6;7)(q25;p22)mat

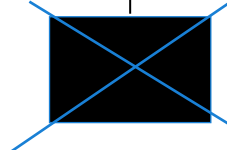


46,XY

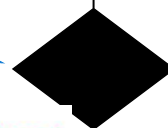


46,XX,t(11;22)(q24;q12)

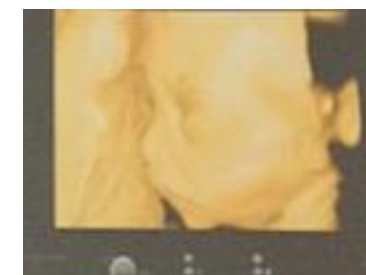
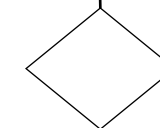
Pierre Robin Sequence



Thai 18 tuần
Sứt môi –
Chẻ vòm



47,XY,+der(22)t(11;22)(q24;q12)mat



Siêu âm 13/5: Thai 28 tuần,
chưa phát hiện bất thường

KẾT LUẬN



- PGT là biện pháp hiệu quả phòng ngừa sớm bệnh di truyền, tránh chấm dứt thai kỳ không mong muốn, giúp tăng khả năng mang thai cho các cặp vợ chồng hiếm muộn.
- PGT đã được ứng dụng lâm sàng thành công tại bệnh viện Từ Dũ khảo sát cả bất thường về cấu trúc và số lượng bộ NST, cũng như bệnh gen với tỷ lệ mang thai 71.5%.
- Cần tư vấn di truyền và chọn lựa xét nghiệm thích hợp cho các cặp vợ chồng trước và sau PGT.



THANK YOU!