

Xét nghiệm di truyền trước sinh: vì mục tiêu nâng cao chất lượng dân số



ThS BS Nguyễn Khắc Hân Hoan
Khoa xét nghiệm di truyền y học
Bệnh viện Từ Dũ

Mục tiêu CD di truyền trước sinh

- Xác định chính xác tình trạng thai **càng sớm càng tốt**
- Thông tin về tiên lượng, khả năng tái mắc ở thai sau
- Tư vấn các lựa chọn cho thai kỳ
 - Chấm dứt thai kỳ
 - Điều trị trong tử cung
- Phương pháp sinh và chăm sóc chu sinh tối ưu

3

Đặt vấn đề

Các bất thường bẩm sinh nặng gây gánh nặng lớn cho xã hội và gia đình

- 30% các bệnh lý phải nhập viện ở trẻ em
- 20% tử vong sơ sinh
- 50% tử vong ở trẻ em

Loại bất thường	% / tổng số sinh	% / tổng số Btg
Bất thường hình thái	3	60
Bệnh đơn gen	1,4	28
Rối loạn nhiễm sắc thể	0,6	12
Tổng số	5	100

Nguồn: Prenat Neonat Med 1999;4:157-164

2

Đối tượng CD di truyền trước sinh

- Vợ hoặc chồng
 - Bản thân bị bất thường nhiễm sắc thể (NST), gen
 - Con bị bất thường NST, gen
 - Tiền sử gia đình bất thường NST, gen
- Thai có bất thường hình thái học
- Tuổi làm mẹ cao ≥ 35 tuổi
- Có các yếu tố nguy cơ cao khác: phơi nhiễm yếu tố gây BTBS

4

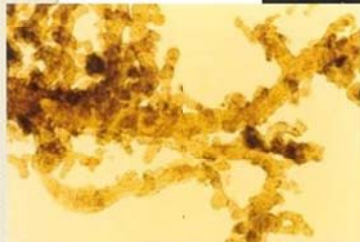
Phương pháp CD di truyền trước sinh

Thủ thuật chẩn đoán trước sinh

- Sinh thiết gai nhau
- Chọc ối
- Chọc máu cuống rốn

Kỹ thuật xét nghiệm NST và gen

- Karyotype
- FISH
- PCR, MLPA ...

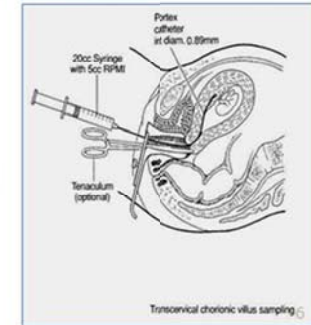
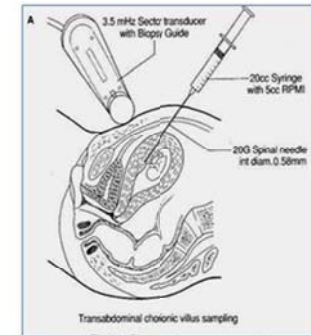


5

7

Sinh thiết gai nhau

- Thai 11 - 13 tuần dưới siêu âm dẫn đường
- Qua thành bụng hoặc qua ngã âm đạo
- Khối lượng gai nhau lấy ~25mg
- Tuổi thai nhỏ
 - Chăm dứt thai kỳ dễ
 - Có thể theo dõi xác định thêm
 - Có nhiều thời gian để quyết định
- Khối lượng tế bào thu thập được nhiều



Chọc hút dịch ối

- Thai 16 - 20 tuần dưới siêu âm dẫn đường
- Qua thành bụng, dễ thực hiện, thuận lợi khi song thai
- Nguy cơ sảy thai do thủ thuật: thấp < 0,5% / Tỷ lệ sảy thai nền ~1%
- Có thể khảo sát các marker sinh hóa trong dịch ối
- Nhược điểm
 - Chẩn đoán khi tuổi thai trễ
 - Khối lượng tế bào thu thập được không nhiều

8

Xét nghiệm nhiễm sắc thể

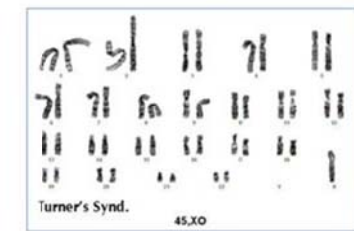
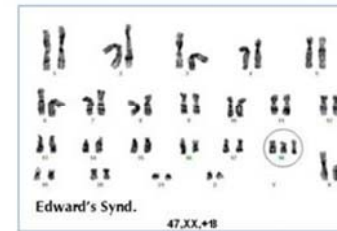
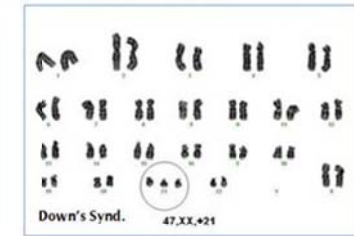
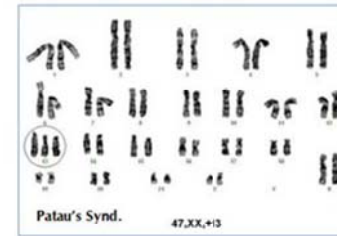
- Đối tượng: thai nguy cơ cao bị Hội chứng Down, Edwards, Patau, Turner qua tiền sử, tuổi mẹ cao, sàng lọc triple test, double test...
- Các phương pháp xét nghiệm
 - KARYOTYPE: Tiêu chuẩn vàng, khảo sát toàn bộ NST
 - FISH: Nhanh, > 24 giờ, IVD
 - QF-PCR: Nhanh, hàng loạt, khối lượng mẫu ít, IVD

9

Xét nghiệm NST – kỹ thuật Karyotype

Ưu điểm: Khảo sát toàn bộ nhiễm sắc thể người, tiêu chuẩn vàng.
Nhược điểm: Tốn nhiều công và thời gian: 14 – 21 ngày.

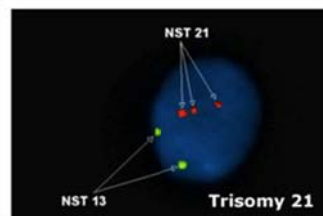
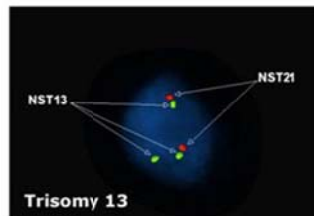
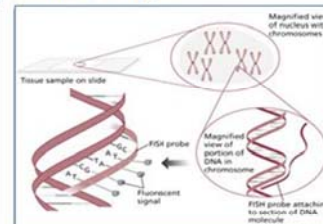
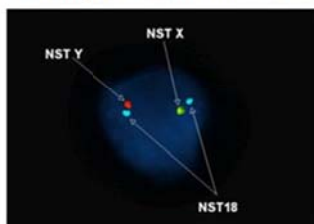
Nuôi cấy tế bào → thu hoạch → nhỏ lam → nhuộm → phân tích → KQ



10

Xét nghiệm NST – kỹ thuật FISH

Ưu điểm: Khảo sát nhanh số lượng NST13, 18, 21, giới tính
Nhược điểm: Tốn nhiều công, năng suất thấp, 10 mẫu / 1BS+1KTV / ngày.
Thu hoạch → nhỏ lam → lai → phân tích → KQ

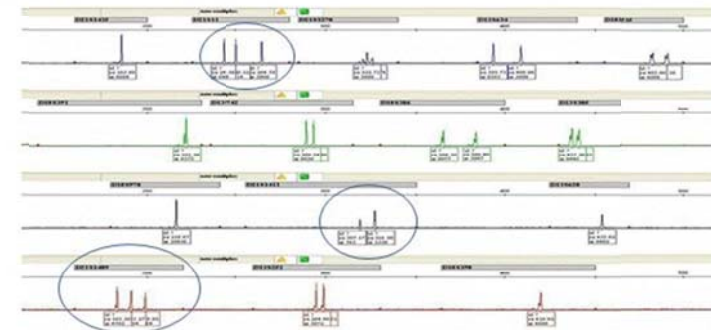


11

Xét nghiệm NST – kỹ thuật QF-PCR

Ưu điểm: Khảo sát nhanh số lượng NST 13, 18, 21, giới tính
Năng suất cao hàng trăm mẫu / 48 giờ
Tiên đoán dương 100%, độ đặc hiệu 100%, độ nhạy 95% (do ngoại nhiễm máu mẹ)
Sử dụng rộng rãi tại châu Âu, chứng nhận IVD

Nhược điểm: không thực hiện được khi nhiễm máu mẹ



Nguồn: Vincenzo Cirigliano (2009) Prenatal Diagnosis, 29:40-49

12

Chẩn đoán đột biến gen

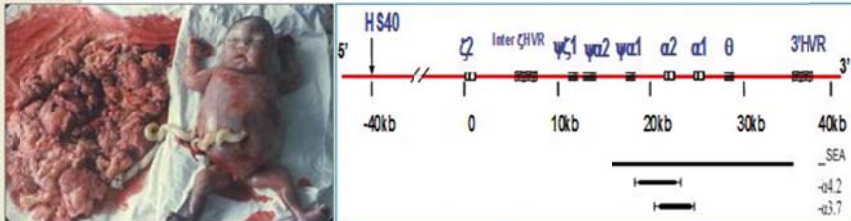
- Thalassemia
- Hội chứng Di George
- Loạn dưỡng cơ Duchenne
- Hemophilia
- Uniparental Disomy 15
 - Hội chứng Angelman
 - Hội chứng Prader Willi
- Các bệnh khác

13

Alpha thalassemia

$(\alpha\alpha/\alpha\alpha)$ Người bình thường

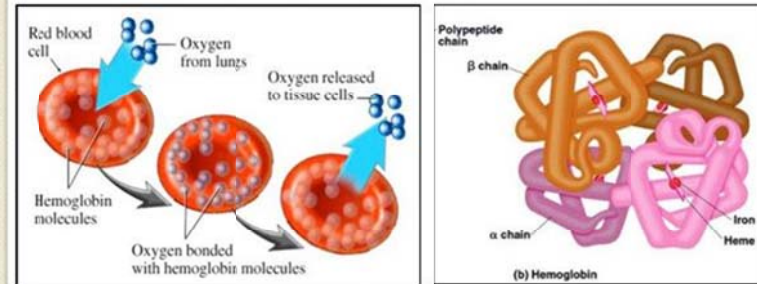
$(--/--)$ Phù thai, thai thai chết lưu	$(--/-\alpha)$ Bệnh Hb H thiếu máu nặng	$(--/\alpha\alpha); (-\alpha/-\alpha)$ α -thalassemia 1 thiếu máu nhẹ	$(-\alpha/\alpha\alpha)$ α -thalassemia 2 Người lành mang gen bệnh
--	---	--	--



15

Chẩn đoán gen bệnh thalassemia

- Bệnh thalassemia gây thiếu máu, tan huyết
- Bệnh đơn gen phổ biến nhất thế giới
- 2 nhóm chính: alpha thalassemia & beta thalassemia

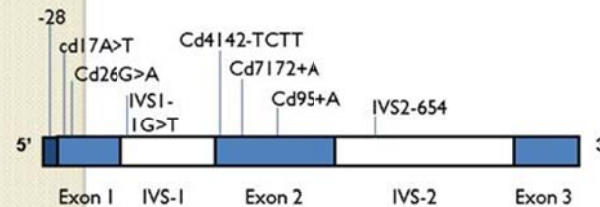


14

Beta thalassemia

β/β Người bình thường

β/β Đột biến 1 gen	β/β Đột biến 2 gen
Không biểu hiện lâm sàng Thiếu máu nhẹ Hồng cầu nhỏ và nhược sắc MCH < 28 pg, MCV < 80fL	Thiếu máu nặng Khởi bệnh sớm Điều trị phức tạp: truyền máu, cắt lách, thải sắt, ghép tủy
TRUYỀN BỆNH CHO THẾ HỆ SAU	TỬ VONG KHI CÒN TRẺ

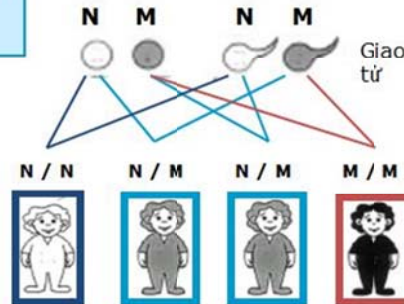
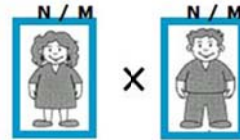


Các đột biến gen
beta thalassemia
phổ biến ở Việt
Nam

16

Thalassemia - Kiểu Di Truyền

- Người mang 1 gen bệnh
- Thiếu máu: hồng cầu nhỏ, nhược sắc, không biểu hiện lâm sàng
MCV < 80fL, MCH < 28pg
- Có thể có con bị thalassemia nặng nếu lấy người mang 1 gen bệnh



N : bình thường – M : đột biến

N/M : mang gene bệnh, nhưng không bệnh

N/N : người bình thường

M/M : biểu hiện bệnh

Sàng lọc trước sinh bệnh thalassemia

Đơn giản với xét nghiệm sẵn có

- Xác định thiếu máu nhược sắc = **XN huyết đồ (MCV < 80fl hoặc MCH < 28pg)**
- Loại trừ nguyên nhân thiếu sắt = **XN Ferritin bình thường**
- Xác định thể thalassemia = **Điện di hemoglobin**

XN sàng lọc chồng nếu thai phụ (+)

XN CD đột biến gen cho thai nếu vợ và chồng đều (+)



19

Phân bố thalassemia



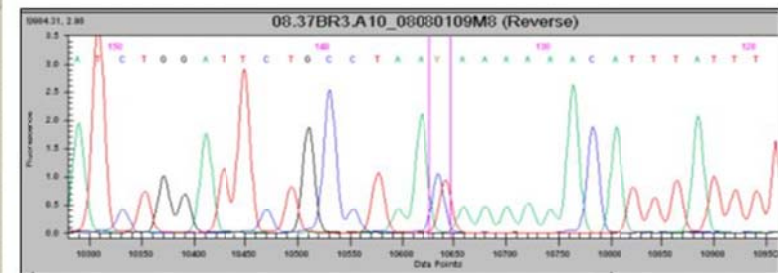
WHO 1983: thalassemia là vấn đề sức khỏe nghiêm trọng của thế giới

Nguồn: WHO (1983) Community control of hereditary anaemias. Bulletin of the World Health Organization, 61: 63-80; Hoan NKH (2005) Thalassemia and a model of prevention in Vietnam. Master thesis. Sydney Uni.

18

CD trước sinh đột biến gen thalassemia

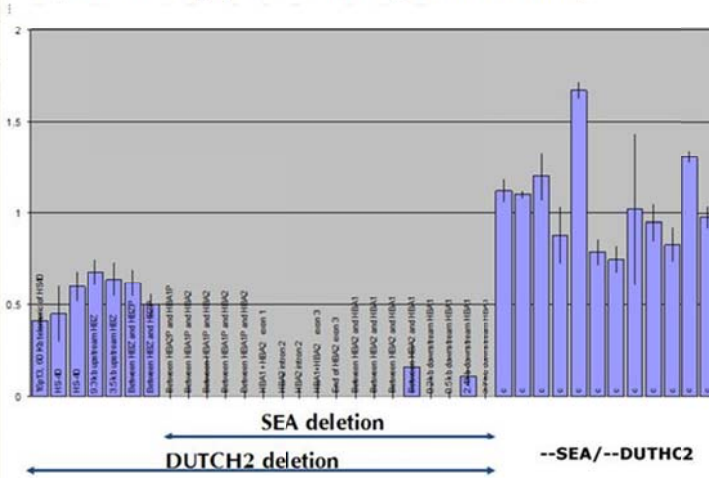
Thực hiện khi sàng lọc dương tính



Kết quả CDTS beta thalassemia ở thai có kiểu gen dị hợp tử đột biến ở đuôi poly A (T>C) → người lành mang gen bệnh

20

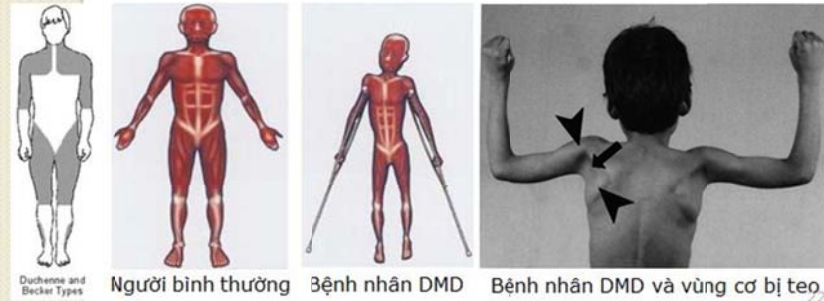
Kết quả CĐTTS alpha thalassemia ở thai có kiểu gen đột biến SEA/DUCTH2 → gây thể Hb Bart's (phù thai và nhau).



21

CĐ gen bệnh loạn dưỡng cơ Duchenne

- **Thể DMD (Duchenne muscular dystrophy)**
 - Tỷ lệ 1/3.500 trẻ trai, cao nhất nhóm bệnh DT thần kinh cơ
 - Loạn dưỡng cơ vân → nhược cơ, teo cơ, xuất hiện sớm 2 - 3 tuổi
 - Tiến triển nặng nhanh, tử vong ~ 20 tuổi
- **Thể BMD (Becker muscular dystrophy)**
 - Biểu hiện bệnh nhẹ hơn, tiến triển chậm.



Duchenne and Becker Types

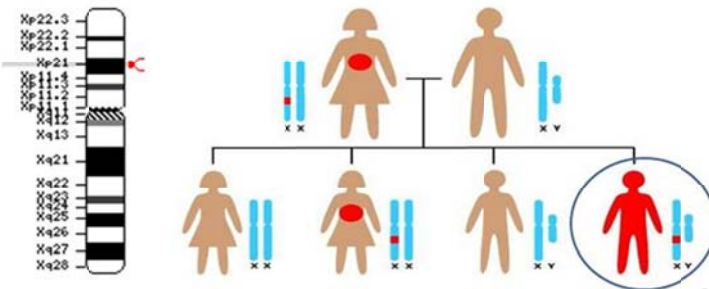
Người bình thường

Bệnh nhân DMD

Bệnh nhân DMD và vùng cơ bị teo

Bệnh Duchenne – kiểu di truyền

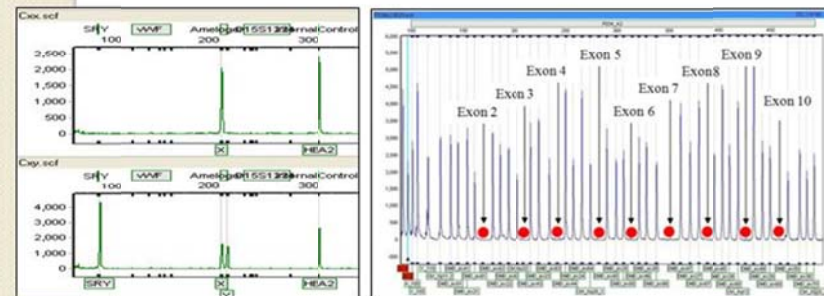
- Di truyền lặn liên kết NST giới tính X
 - Đột biến gen dystrophin (dài nhất ở người) trên NST X (Xp21.2).
 - Mẹ mang gen truyền cho con trai → hầu như chỉ xảy ra ở các trẻ trai
- > 65% do đột biến mất đoạn hoặc lặp đoạn gen dystrophin



23

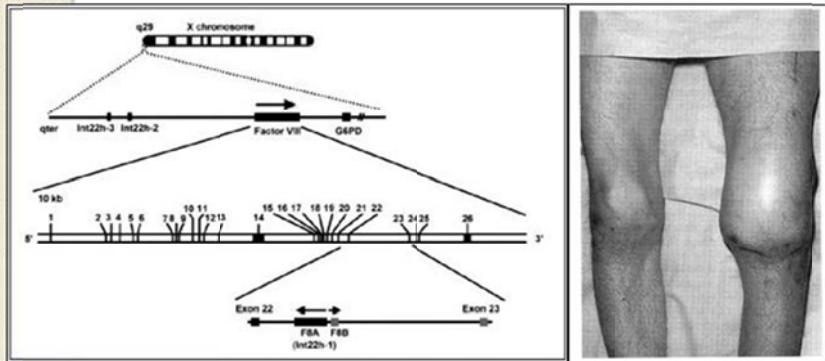
CĐ trước sinh đột biến gen DMD

- **Đối tượng**
 - Thai phụ nghi ngờ mang gen hoặc có con bị bệnh DMD hoặc BMD
 - Trẻ bị bệnh DMD và BMD
- **Kỹ thuật**
 - PCR xác định giới tính nam của thai
 - MLPA khảo sát đột biến gen
 - PCR phân tích liên kết gen của thai với mẹ và anh trai bị bệnh



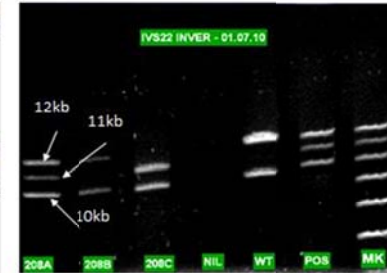
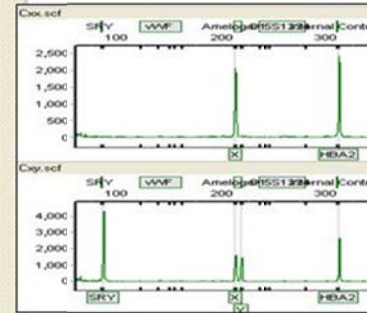
CD gen bệnh Hemophilia A

- Giảm yếu tố VIII đông máu → truyền yếu tố VIII suốt đời
- Tỉ lệ 1 / 5.000 bé trai sơ sinh
- Di truyền liên kết với NST giới tính X
 - Đột biến gen FVIII, trên NST X (Xq28)
 - Mẹ mang gen truyền cho con trai → hầu như chỉ xảy ra ở các trẻ trai



CD trước sinh đột biến gen FVIII

- Đối tượng
 - Thai phụ mang gen bệnh hoặc có con bệnh hemophilia
 - Trẻ bị bệnh hemophilia
- Kỹ thuật
 - PCR xác định giới tính nam của thai
 - PCR khảo sát đột biến: biến đảo đoạn Intron 22 gây bệnh rất nặng
 - PCR phân tích liên kết gen của thai với mẹ và anh trai bị bệnh



Kết quả khảo sát đột biến đảo đoạn intron 22 gia đình 208

CD Hội chứng DiGeorge

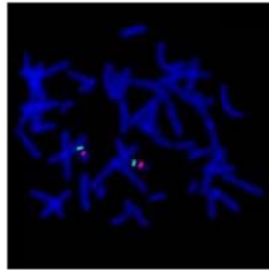
- Hội chứng mất đoạn nhiễm sắc thể vị trí 22q11.2
- DTBS tim: thông liên thất, thân chung động mạch, Fallot 4
 - DTBS tuyến ức: suy miễn dịch, dễ nhiễm trùng
 - DTBS tuyến cận giáp: giảm tiết PTH → giảm canxi calcium và tăng phosphorus máu
 - Ché hàm và khe môi
 - Khuôn mặt đặc biệt: mắt dài, tai nhỏ và thấp, 2 mắt xa nhau, mắt búp, môi trên mỏng và có rãnh ngắn
 - Trí não: rối loạn phát triển, rối loạn hành vi, học tập và ngôn ngữ kém, rối loạn tập trung, tự kỷ
 - Khuyết tật về thính giác, giảm thị giác, chức năng thận kém, thể trạng thấp bé
 - Trẻ lớn và người lớn: trầm cảm, tâm thần phân liệt

Hội chứng DiGeorge



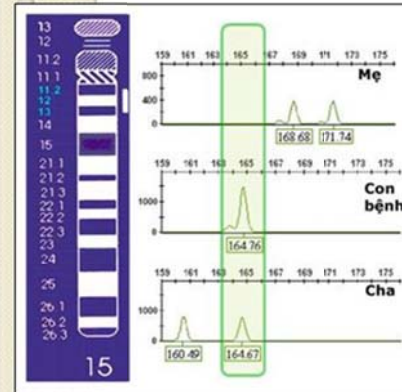
CĐ trước sinh Hội chứng DiGeorge

- Đối tượng
 - Thai nghi ngờ bị HC DiGeorge phát hiện trên siêu âm (DTBS tim, tuyến ức...)
- Khảo sát mất đoạn nhiễm sắc thể 22q11.2
- Kỹ thuật chẩn đoán
 - MLPA, FISH



29

Uniparental Disomy 15 (UPD 15)



- Bình thường: cả thể nhận 1 NST từ cha và 1 NST từ mẹ
- UPD 15: cả thể chỉ nhận 1 hoặc nhận cả 2 đoạn NST số 15 (15q11-13) từ 1 người cha/mẹ, người còn lại không cho đoạn NST này
- Nhận từ mẹ gây Hội chứng Prader-Willi (PWS)
- Nhận từ cha gây Hội chứng Angelman (AS)
- **Đối tượng CĐ trước sinh:** Các thai phụ đã có con bị UPD.

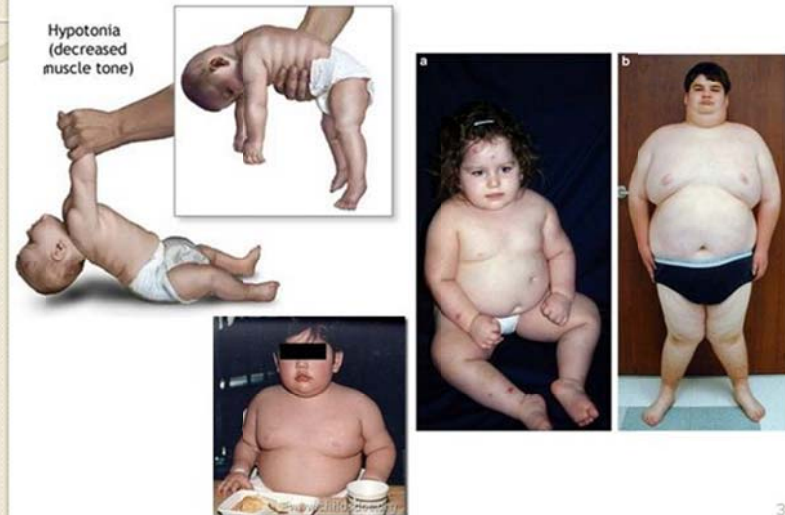
30

Hội chứng Prader Willi

- Đặc điểm chính: luôn có cảm giác đói, luôn muốn ăn, béo phì
- Trẻ sơ sinh
 - Trương lực cơ kém, bú kém → kém tăng trưởng
 - Lác mắt, điều hòa giữa 2 mắt kém
- Trẻ nhỏ
 - Háo ăn, tăng cân rất nhanh
 - Cơ quan sinh dục kém phát triển, dậy thì không hoàn toàn, vô sinh
 - Phát triển thể chất kém: ti khối cơ thấp, chân tay ngắn, thấp lùn
 - Mất khả năng học tập, chậm phát triển ngôn ngữ, RL hành vi
 - Chậm phát triển hệ vận động: ngồi: 12 tháng, đi: 24 tháng
 - Rối loạn giấc ngủ, vẹo cột sống, cận thị, chịu đau giỏi

31

Hội chứng Prader Willi



32

Hội chứng Angelman

- Đặc điểm nổi bật:
 - Vẻ mặt và cử chỉ phấn khích, hạnh phúc
 - Thường mỉm cười, cười lớn, vỗ tay
 - Tăng hoạt động và kém tập trung, khó ngủ và ngủ ít
- Tỷ lệ mắc 1/15.000 trẻ mới sinh
- Chậm phát triển thể hiện rõ ở 6 -12 tháng
- Chậm phát triển tuệ, khả năng ngôn ngữ kém, tự kỷ
- Động kinh
- Rối loạn đi và thăng bằng
- Đầu nhỏ
- Vẹo cột sống

33

Hội chứng Angelman



34

Kết luận

- CD di truyền trước sinh rối loạn nhiễm sắc thể và các bệnh gen
- Phương pháp phòng ngừa hữu hiệu
 - Ngày càng có nhiều bệnh di truyền được chẩn đoán sớm trước sinh
 - Xu hướng phát triển của y học hiện đại
 - Giảm tâm lý căng thẳng cho các gia đình có nguy cơ bị bất thường
 - Giảm gánh nặng xã hội
 - Tăng chất lượng dân số

35

Cám ơn



36