



HỘI NGHỊ SẢN PHỤ KHOA LẦN THỨ
VIỆT - PHÁP - CHÂU Á **21**
THÁI BÌNH DƯƠNG



PGS.TS.BS. VƯƠNG THỊ NGỌC LAN

Trưởng khoa Y - Chủ nhiệm Bộ môn Phụ Sản

Đại học Y Dược TP. HCM





HỘI NGHỊ SẢN PHỤ KHOA LẦN THỨ
VIỆT - PHÁP - CHÂU Á
THÁI BÌNH DƯƠNG 21

XÉT NGHIỆM DI TRUYỀN TIỀN LÀM TỔ CHO CÁC BỆNH LÝ ĐƠN GEN HIẾM GẶP



Nội dung

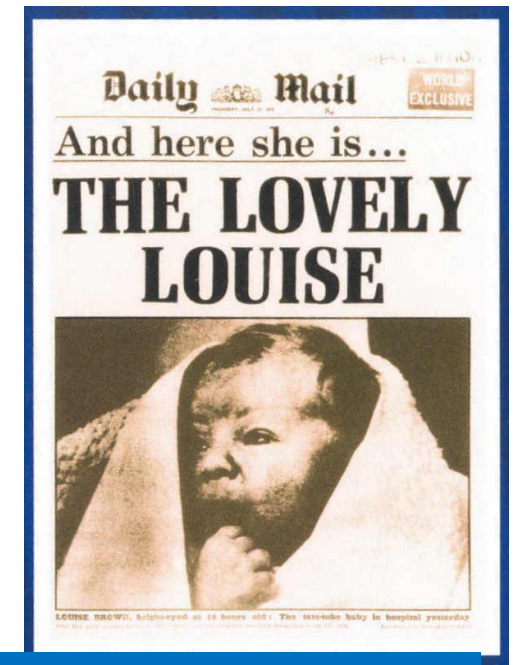
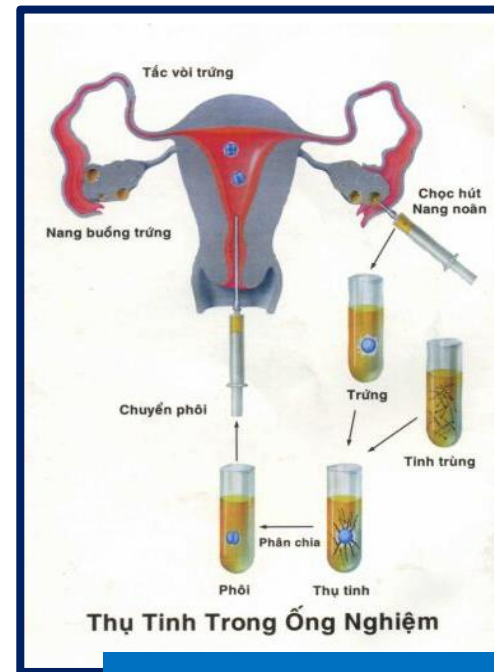
- Giới thiệu về kỹ thuật thụ tinh trong ống nghiệm và xét nghiệm di truyền tiền làm tổ
- Báo cáo ca lâm sàng ứng dụng xét nghiệm di truyền tiền làm tổ trong chẩn đoán bệnh lý đơn gen hiếm gặp
- Đề xuất mô hình phối hợp liên chuyên khoa trong chẩn đoán và xử trí các trường hợp có bệnh lý đơn gen hiếm gặp



KỸ THUẬT THỤ TINH TRONG ỐNG NGHIỆM

Noãn được lấy ra khỏi cơ thể người phụ nữ và được thao tác, thụ tinh, tạo phôi bên ngoài cơ thể.

- Điều trị hiếm muộn
- Tạo phôi là nguyên liệu cho PGT
- Tạo phôi là nguyên liệu của công nghệ tế bào gốc



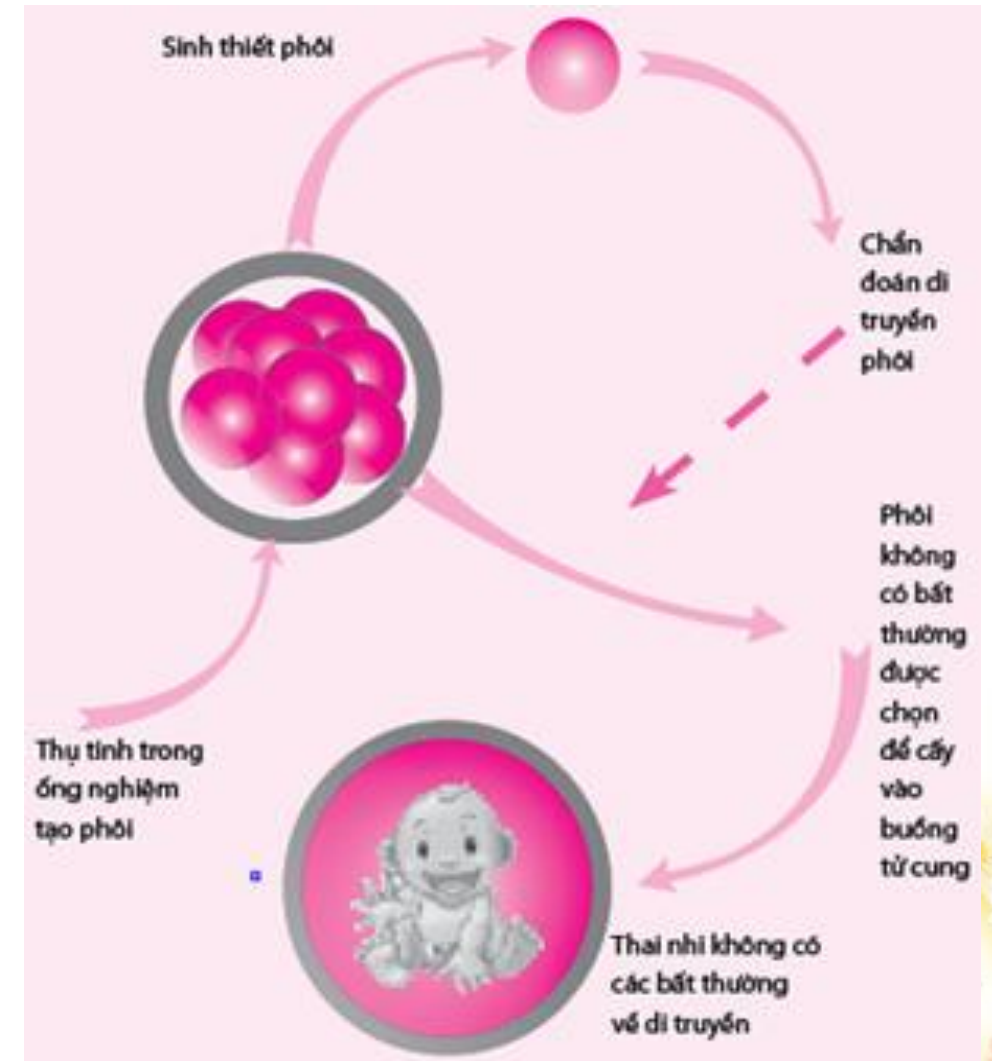
Nobel Y học 2010 – RG Edwards



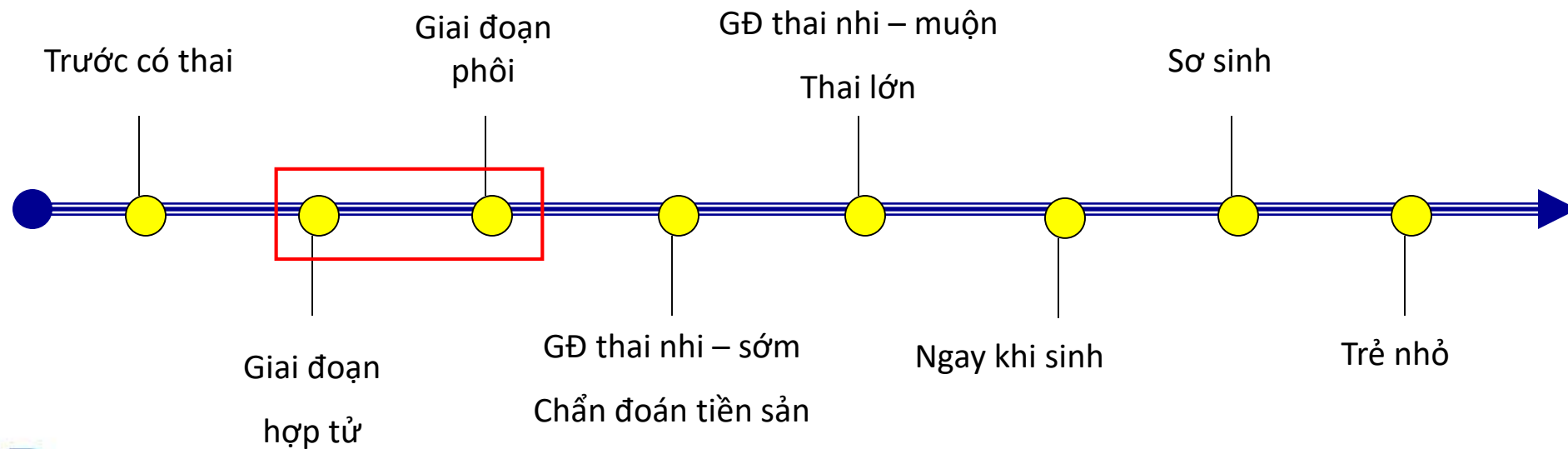
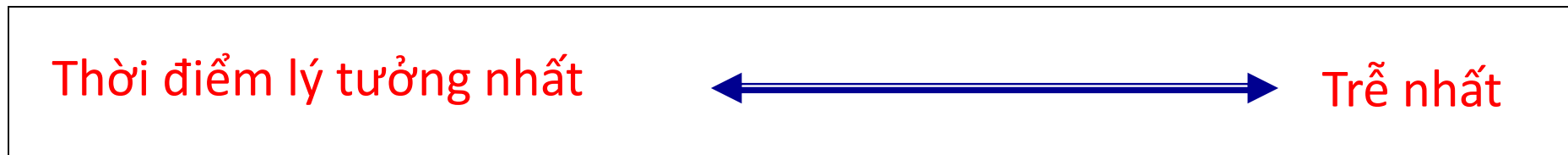
XÉT NGHIỆM DI TRUYỀN PHÔI TIỀN LÀM TỔ

(Pre-implantation genetic testing – PGT)

- Sinh thiết phôi, kết hợp phân tích di truyền
- Chẩn đoán và dự phòng các bệnh lý di truyền ở trẻ sinh ra



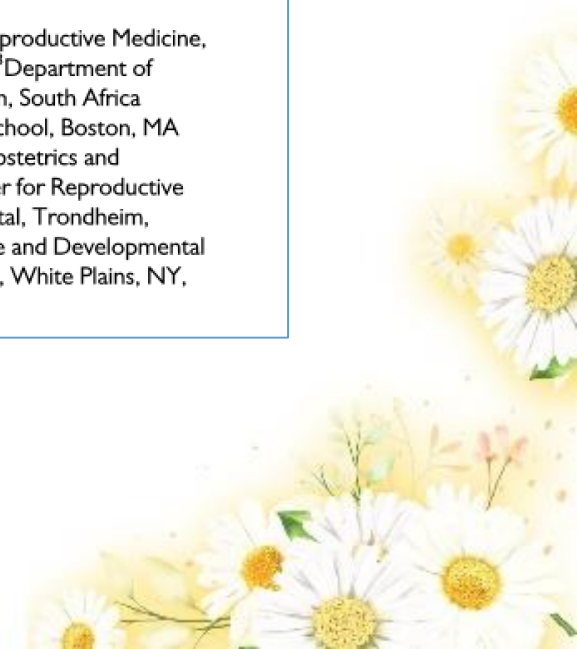
Chẩn đoán và dự phòng nguy cơ bệnh lý di truyền ở trẻ



The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017^{†‡§}

Fernando Zegers-Hochschild^{1,*}, G. David Adamson², Silke Dyer³, Catherine Racowsky⁴, Jacques de Mouzon⁵, Rebecca Sokol⁶, Laura Rienzi⁷, Arne Sunde⁸, Lone Schmidt⁹, Ian D. Cooke¹⁰, Joe Leigh Simpson¹¹, and Sheryl van der Poel¹²

¹University Diego Portales, Program of Ethics and Public Policies in Human Reproduction; Clinica las Condes, Unit of Reproductive Medicine, Santiago, Chile ²ICMART, Palo Alto Medical Foundation Fertility Physicians of Northern California, Palo Alto, CA, USA ³Department of Obstetrics & Gynecology, Groote Schuur Hospital and Faculty of Health Sciences, University of Cape Town, Cape Town, South Africa ⁴Department of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA 02115, USA ⁵INSERM, EIM-ESHRE, ICMART, 15 rue Guilleminot, 75014 Paris, France ⁶Department of Medicine and Obstetrics and Gynecology, Keck School of Medicine, University of Southern California, Los Angeles, CA 90007, USA ⁷GENERA Center for Reproductive Medicine, Valle Giulia Clinic, 00197 Rome, Italy ⁸Department of Obstetrics and Gynecology, St. Olav's University Hospital, Trondheim, Norway ⁹Institute of Public Health, University of Copenhagen, Copenhagen, Denmark ¹⁰Academic Unit of Reproductive and Developmental Medicine, Department of Oncology and Metabolism, University of Sheffield, Sheffield, UK ¹¹March of Dimes Foundation, White Plains, NY, USA ¹²The Population Council, The Rockefeller University, New York, NY 10065, USA



Thuật ngữ - 2017

- Pre-implantation Genetic Diagnosis (PGD)

Chẩn đoán di truyền tiền làm tổ

- Pre-implantation Genetic Screening (PGS)

Tầm soát di truyền tiền làm tổ

Hiện nay thống nhất gọi chung là

- **Pre-implantation Genetic Testing (PGT)**

Xét nghiệm di truyền tiền làm tổ

Human Reproduction, Vol.32, No.9 pp. 1786–1801, 2017

Advanced Access publication on July 28, 2017 doi:10.1093/humrep/dex234

human
reproduction

ESHRE PAGES

The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017^{†‡§}

Fernando Zegers-Hochschild^{1,*}, G. David Adamson², Silke Dyer³, Catherine Racowsky⁴, Jacques de Mouzon⁵, Rebecca Sokol⁶, Laura Rienzi⁷, Arne Sunde⁸, Lone Schmidt⁹, Ian D. Cooke¹⁰, Joe Leigh Simpson¹¹, and Sheryl van der Poel¹²

¹University Diego Portales, Program of Ethics and Public Policies in Human Reproduction; Clinica las Condes, Unit of Reproductive Medicine, Santiago, Chile ²ICMART, Palo Alto Medical Foundation Fertility Physicians of Northern California, Palo Alto, CA, USA ³Department of Obstetrics & Gynecology, Groote Schuur Hospital and Faculty of Health Sciences, University of Cape Town, Cape Town, South Africa ⁴Department of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA 02115, USA ⁵INSERM, EIM-ESHRE, ICMART, 15 rue Guilleminot, 75014 Paris, France ⁶Department of Medicine and Obstetrics and Gynecology, Keck School of Medicine, University of Southern California, Los Angeles, CA 90007, USA ⁷GENERA Center for Reproductive Medicine, Valle Giulia Clinic, 00197 Rome, Italy ⁸Department of Obstetrics and Gynecology, St. Olav's University Hospital, Trondheim, Norway ⁹Institute of Public Health, University of Copenhagen, Copenhagen, Denmark ¹⁰Academic Unit of Reproductive and Developmental Medicine, Department of Oncology and Metabolism, University of Sheffield, Sheffield, UK ¹¹March of Dimes Foundation, White Plains, NY, USA ¹²The Population Council, The Rockefeller University, New York, NY 10065, USA



Thuật ngữ (2017)

Preimplantation Genetic Testing (PGT)

Là xét nghiệm phân tích DNA của noãn, phôi để xác định các bất thường di truyền của phôi hoặc nhóm HLA của phôi.

PGT bao gồm:

- **PGT** chẩn đoán **aneuploidies (PGT-A)**
- **PGT** chẩn đoán **monogenic/single gene defects (PGT-M)**
- **PGT** chẩn đoán **chromosomal structural rearrangements (PGT-SR)**



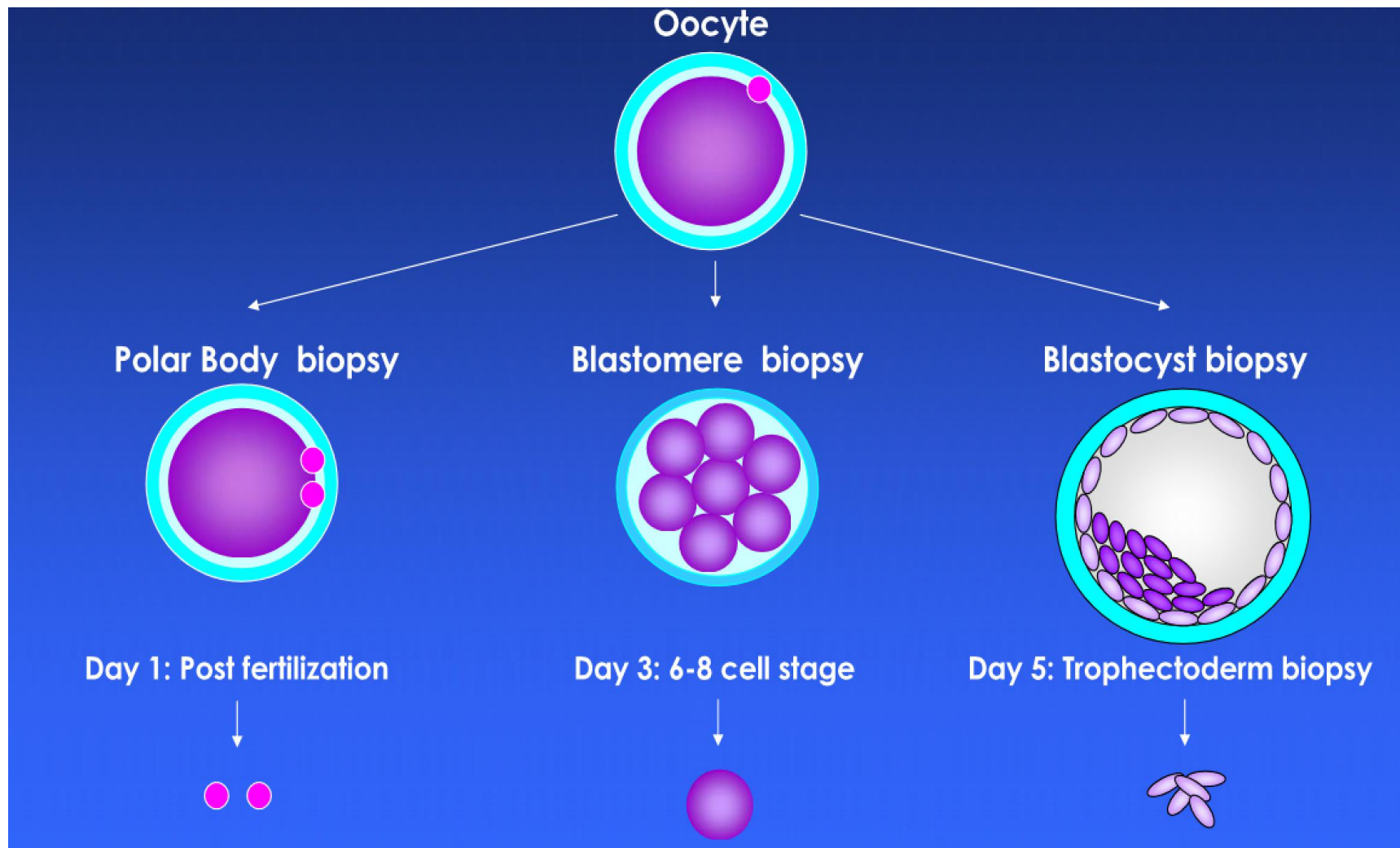
Lịch sử phát triển PGT

- 1990: lần đầu tiên, chẩn đoán gen bệnh ở phôi
- 1993: **FISH** (*fluorescent in situ hybridisation*) (VN-2010)
- 2001: **CGH** (*comparative genomic hybridization*)
- 2004: **Array-CGH** (VN-2018)
- 2013: **NGS** (*Next Generation Sequencing*) (VN-2015)

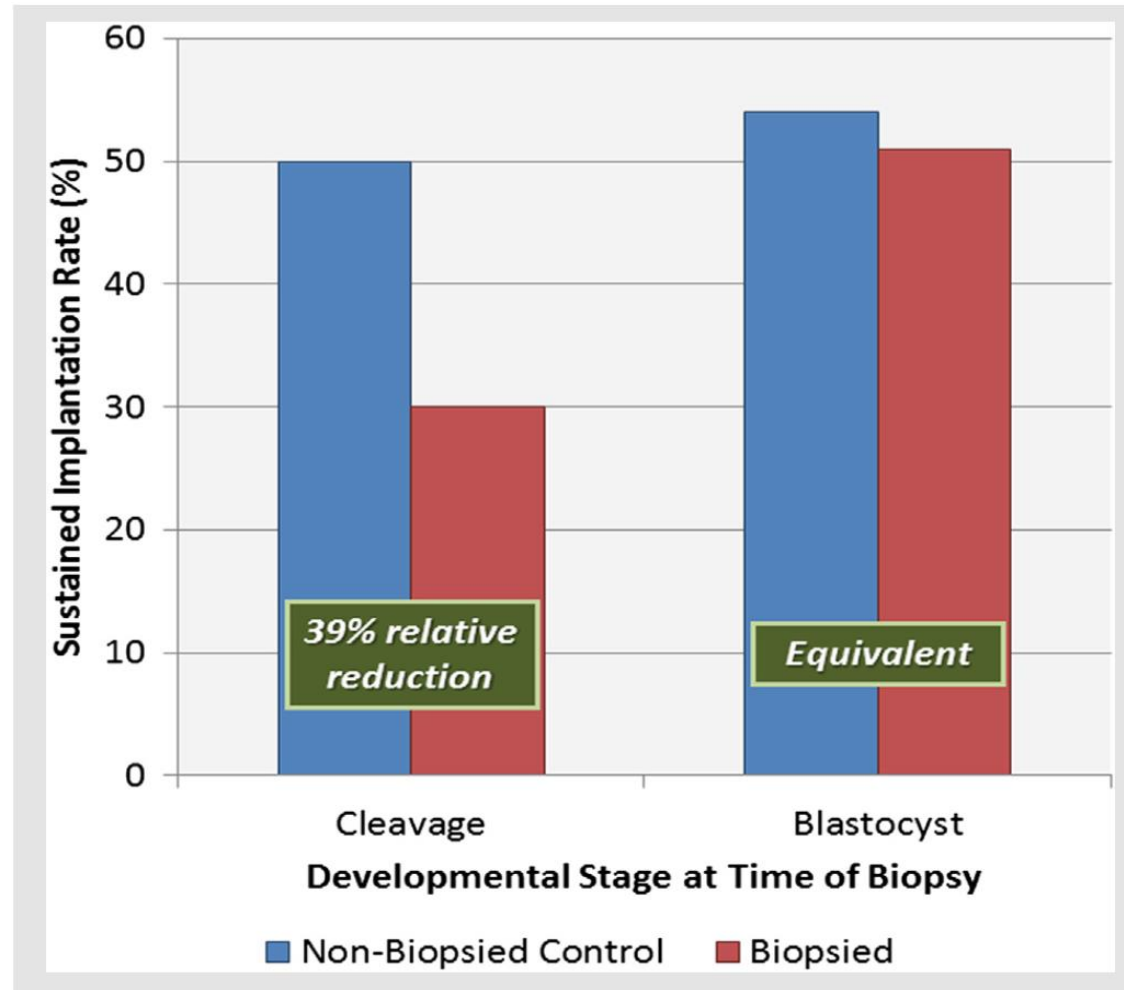
Sự phát triển nhanh của các kỹ thuật chẩn đoán di truyền



PGT: Nguồn DNA

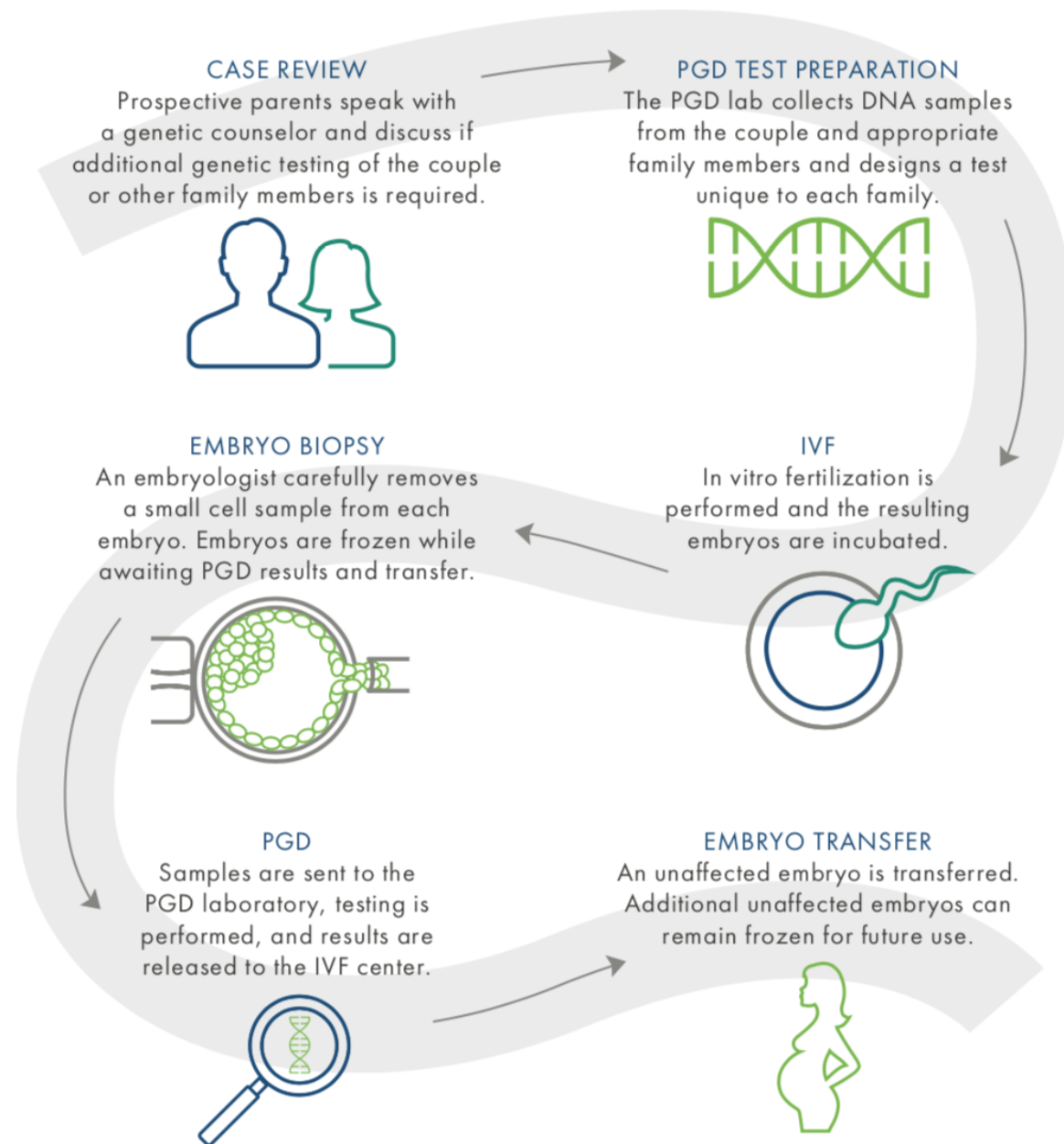


Sinh thiết phôi N3 giảm tỉ lệ làm tổ so với phôi N5

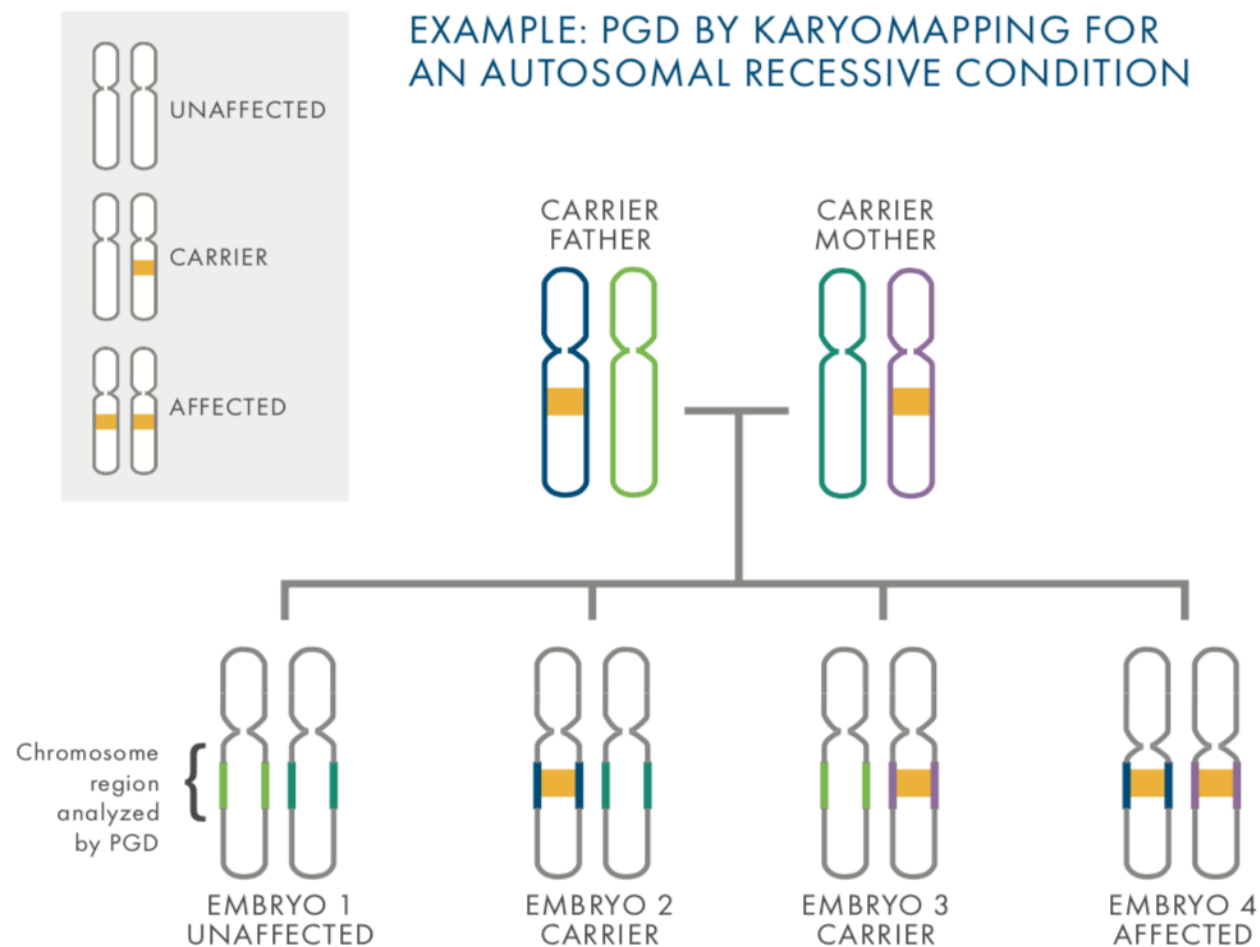


Các chỉ định PGT-M, PGT-SR

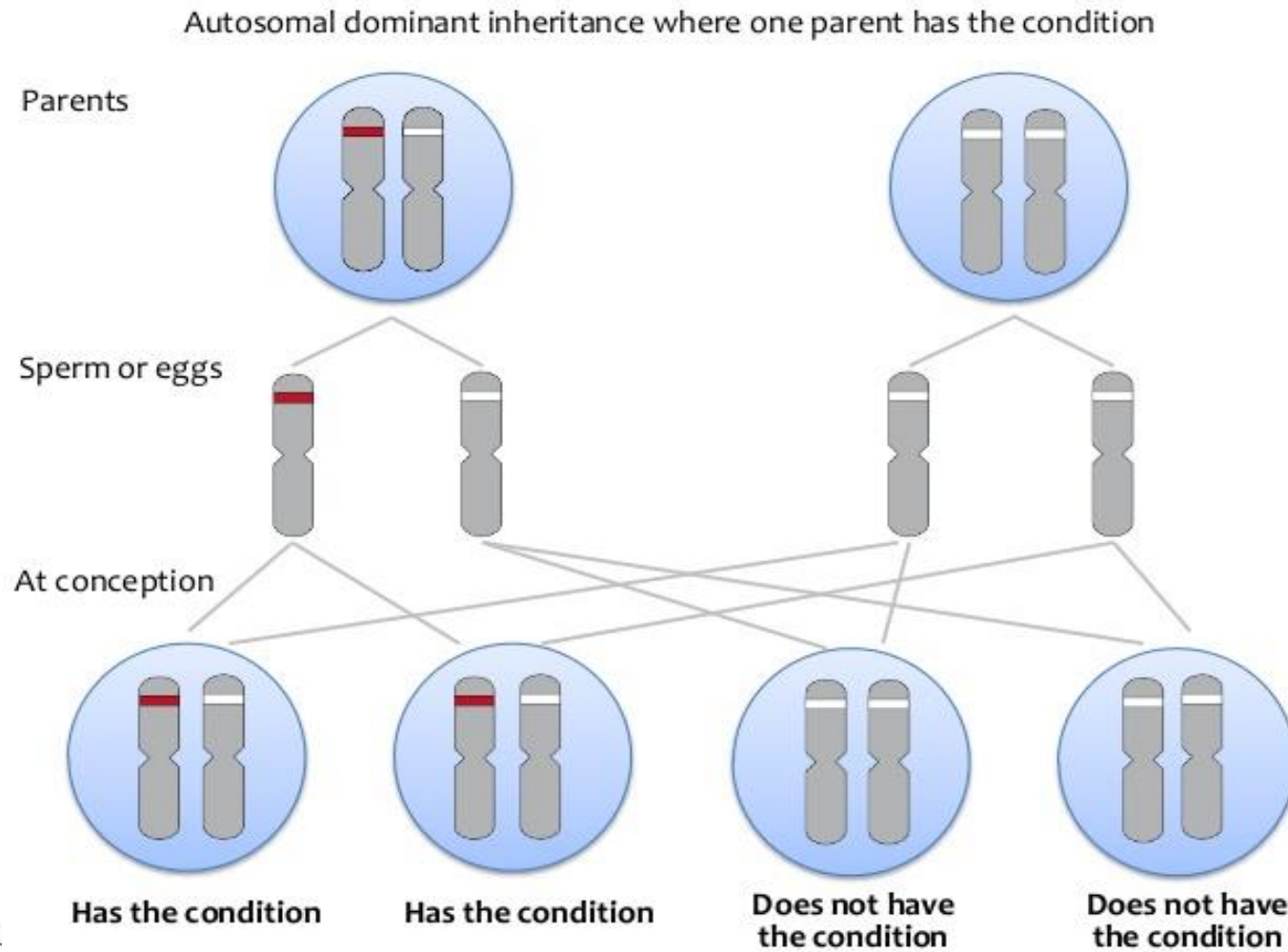
Chẩn đoán đột biến đơn gen,
bất thường cấu trúc nhiễm
sắc thể



PGT-M – ĐỘT BIẾN ĐƠN GEN

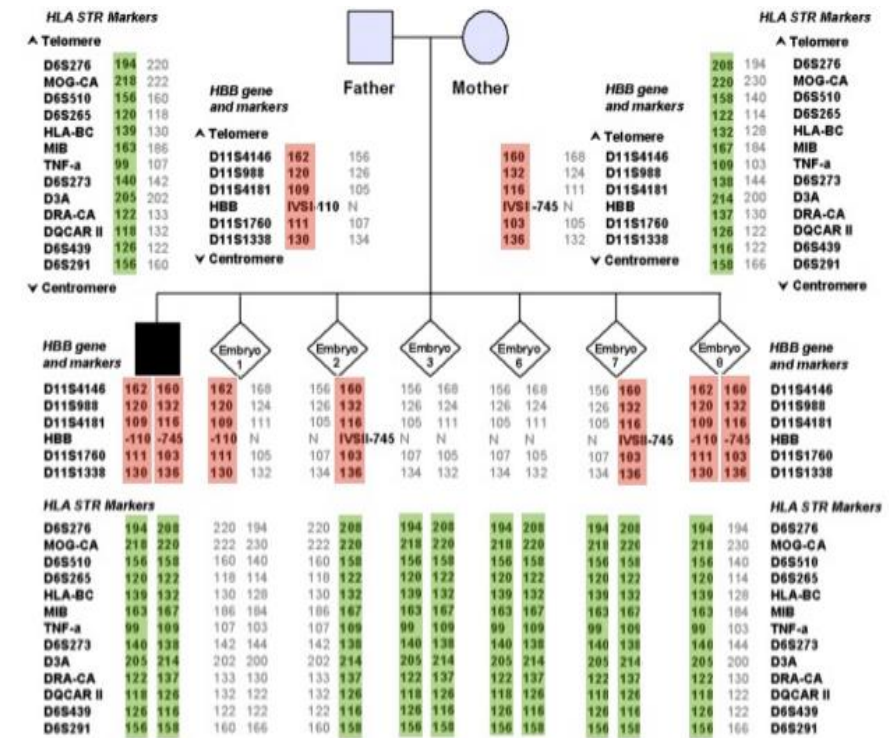


PGT-M – ĐỘT BIẾN ĐƠN GEN



PGT-M – HLA

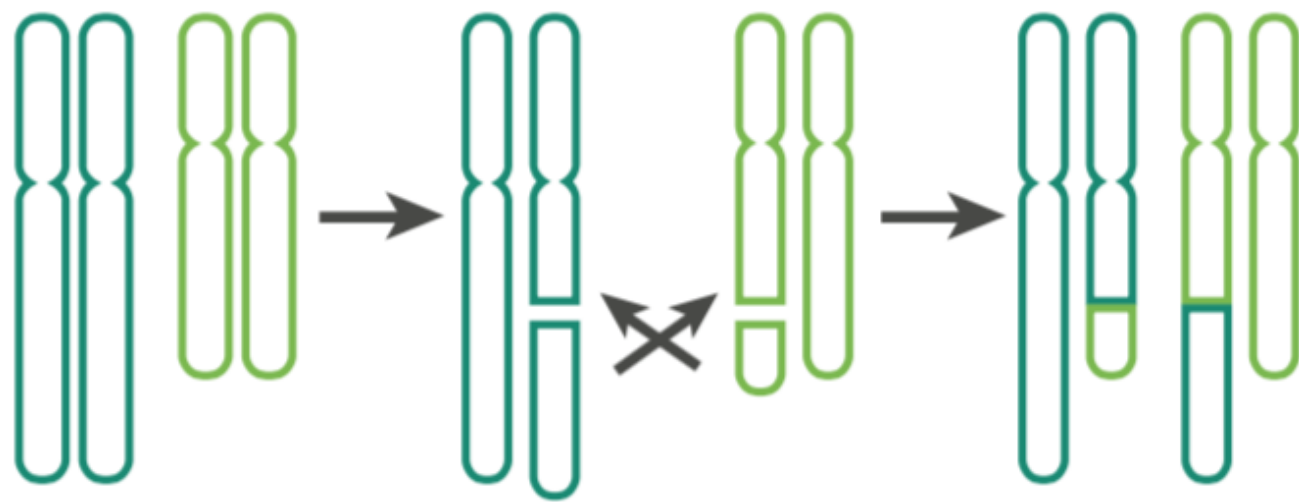
- Tương hợp HLA thì 25% cơ hội có phôi chuyển
- Tương hợp HLA kết hợp với PGT chẩn đoán đột biến đơn gen ở thể lặn thì 18,8% cơ hội có phôi chuyển
- Tương hợp HLA kết hợp với PGT chẩn đoán đột biến liên quan NST X thì 12,5% cơ hội có phôi chuyển



Fiorentino et al (2005) Eur J Hum Genet 13, 953



PGT-SR – BẤT THƯỜNG CẤU TRÚC NST

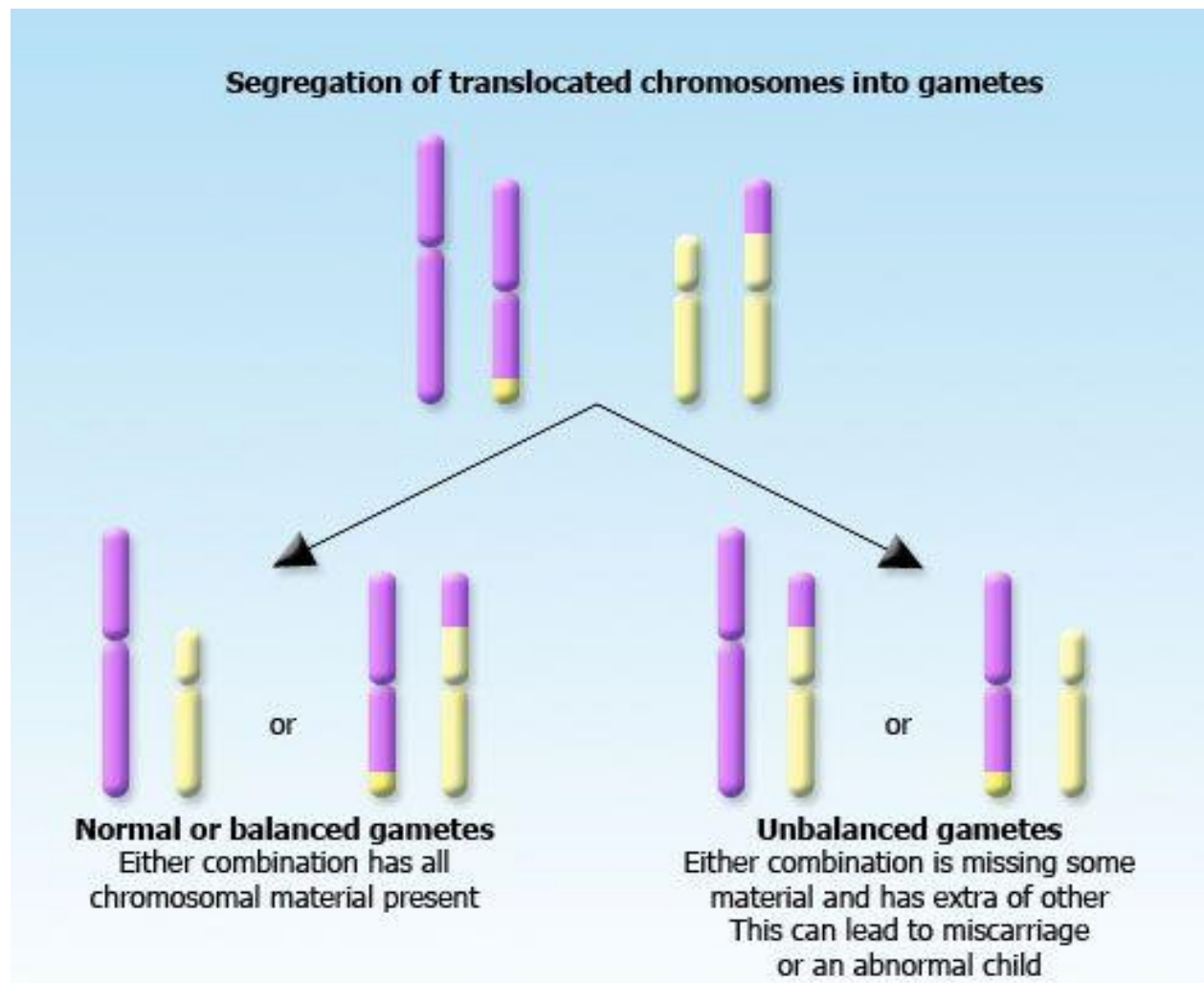


SẢN THƯ
21

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

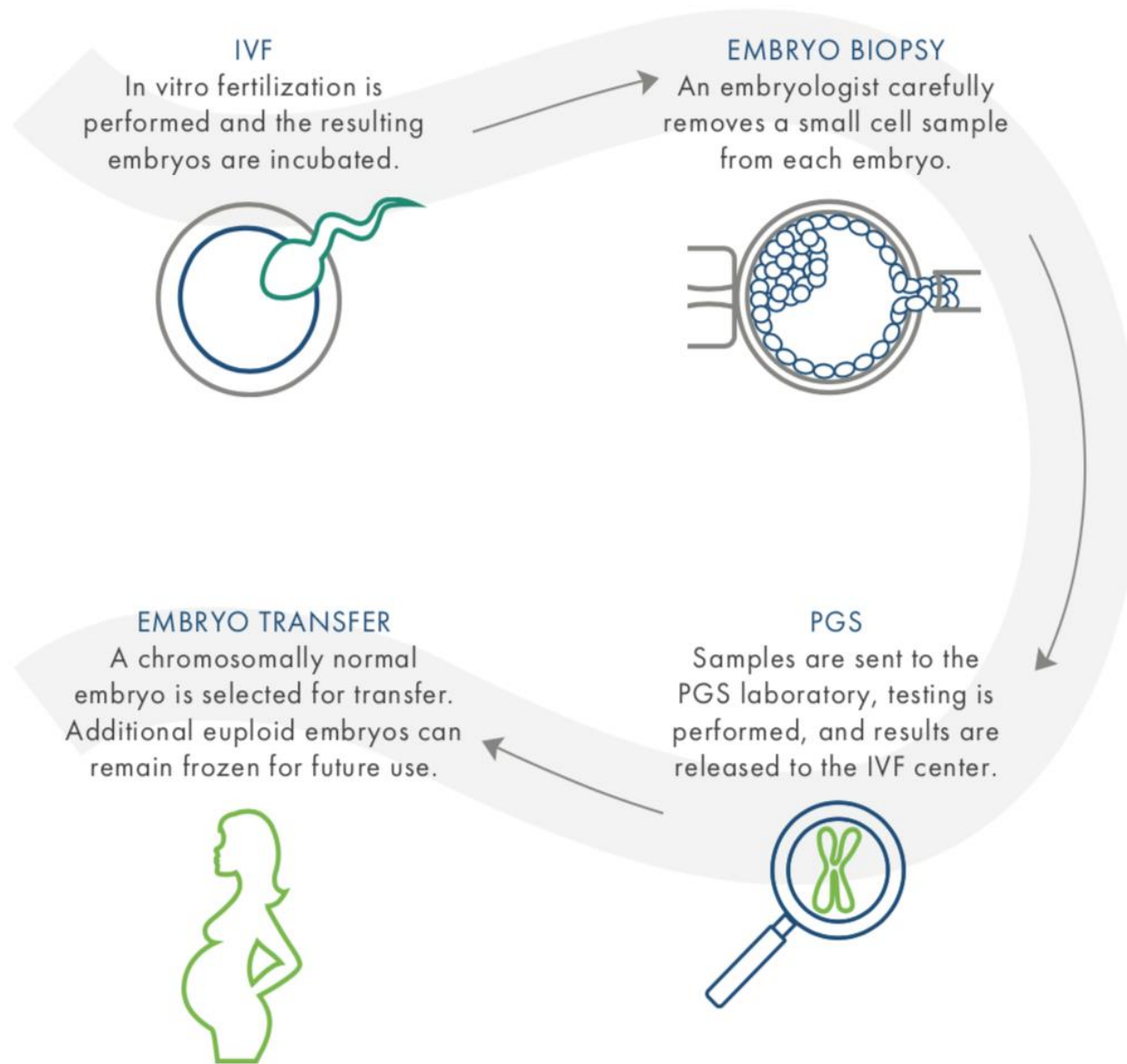


Chuyển đoạn nhiễm sắc thể

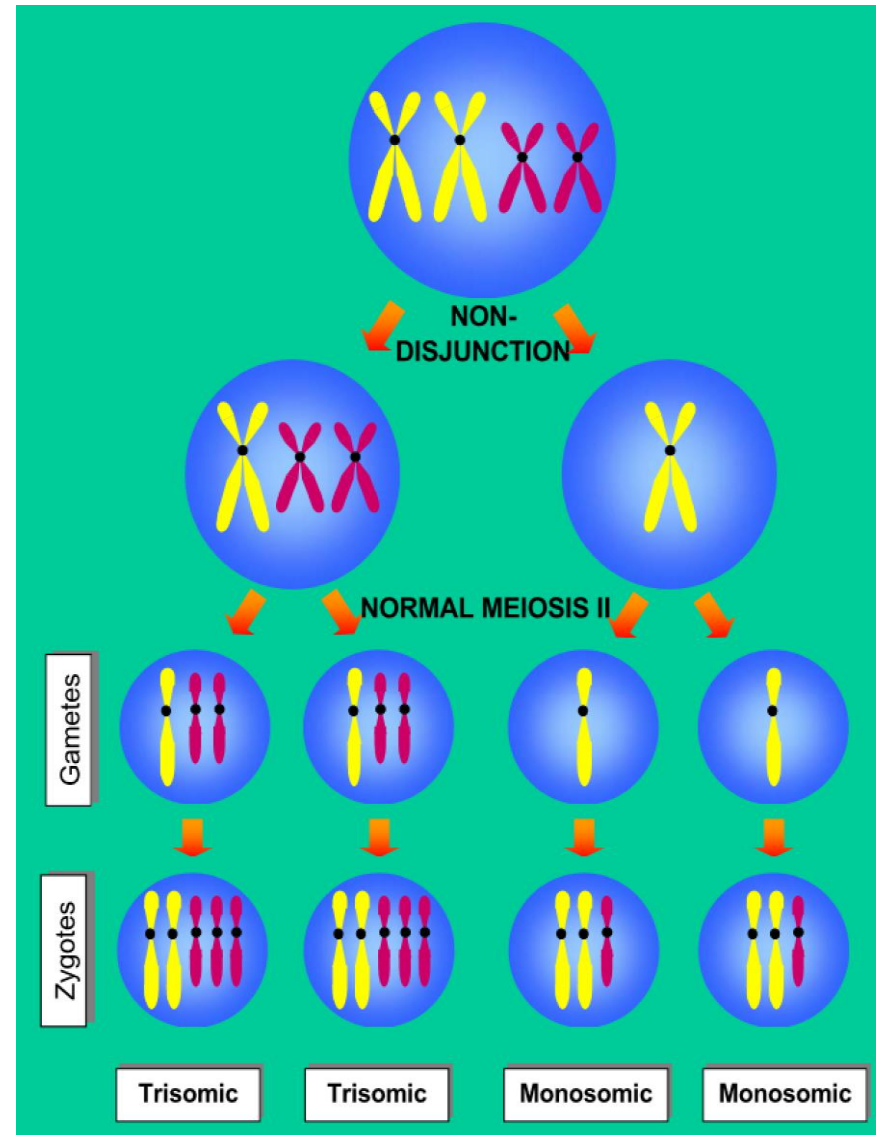


PGT-A

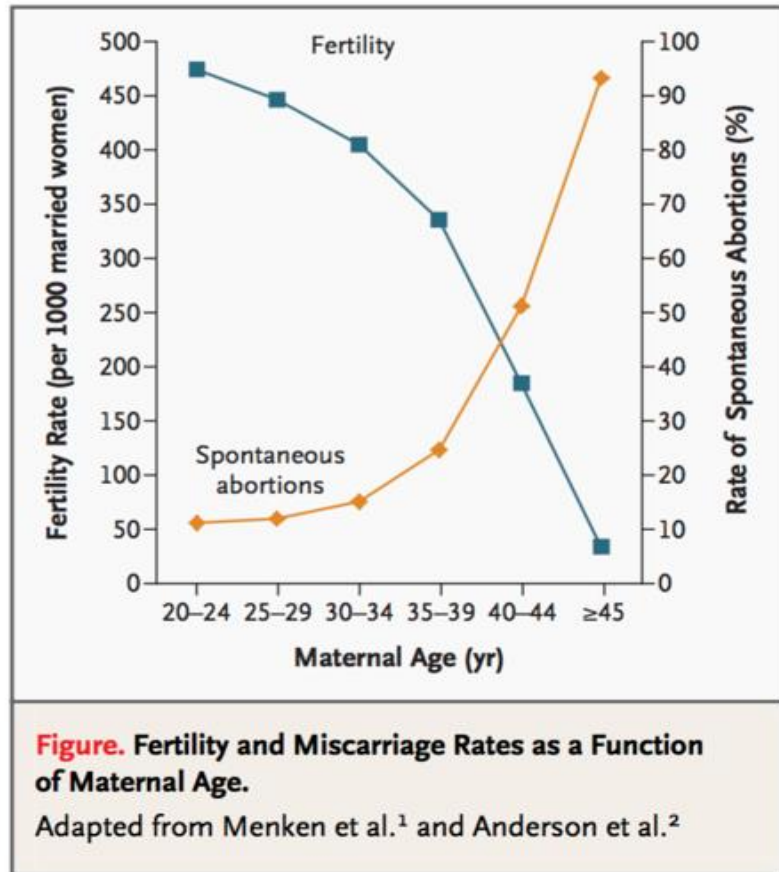
Sàng lọc lệch bội của phôi



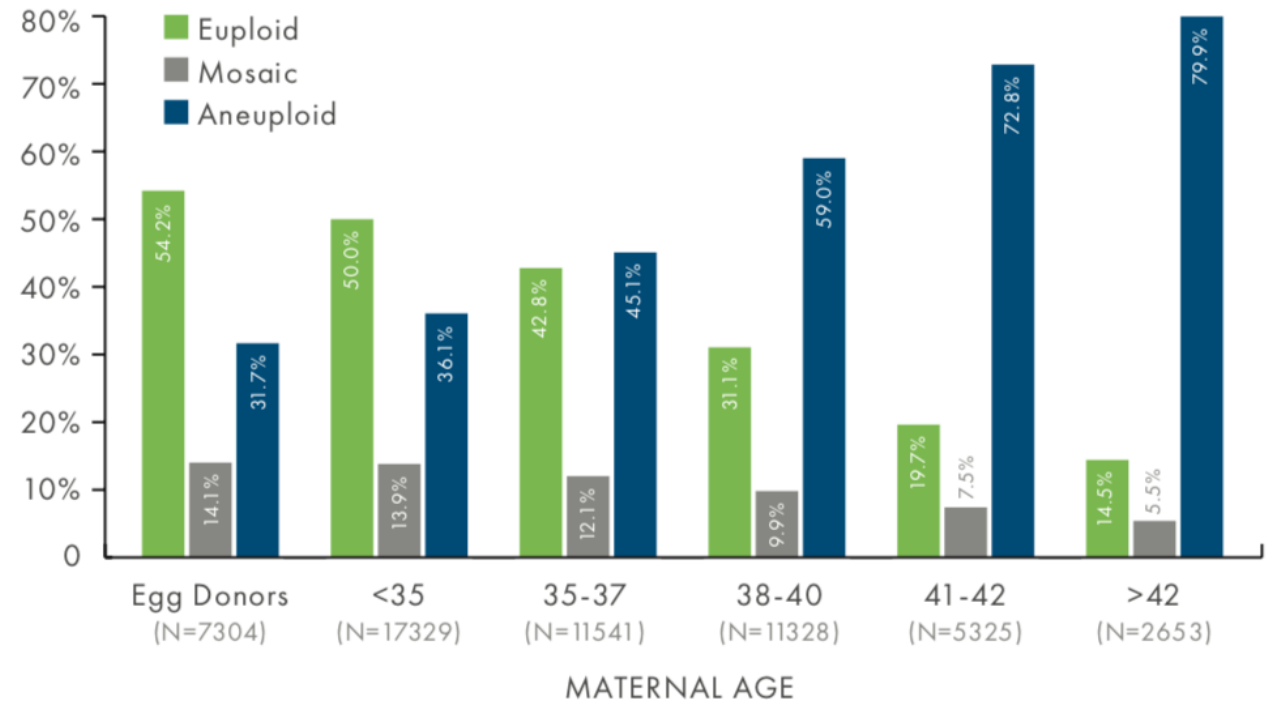
Cơ chế gây lệch bội NST (Aneuploidy)



Aneuploidy và sinh sản



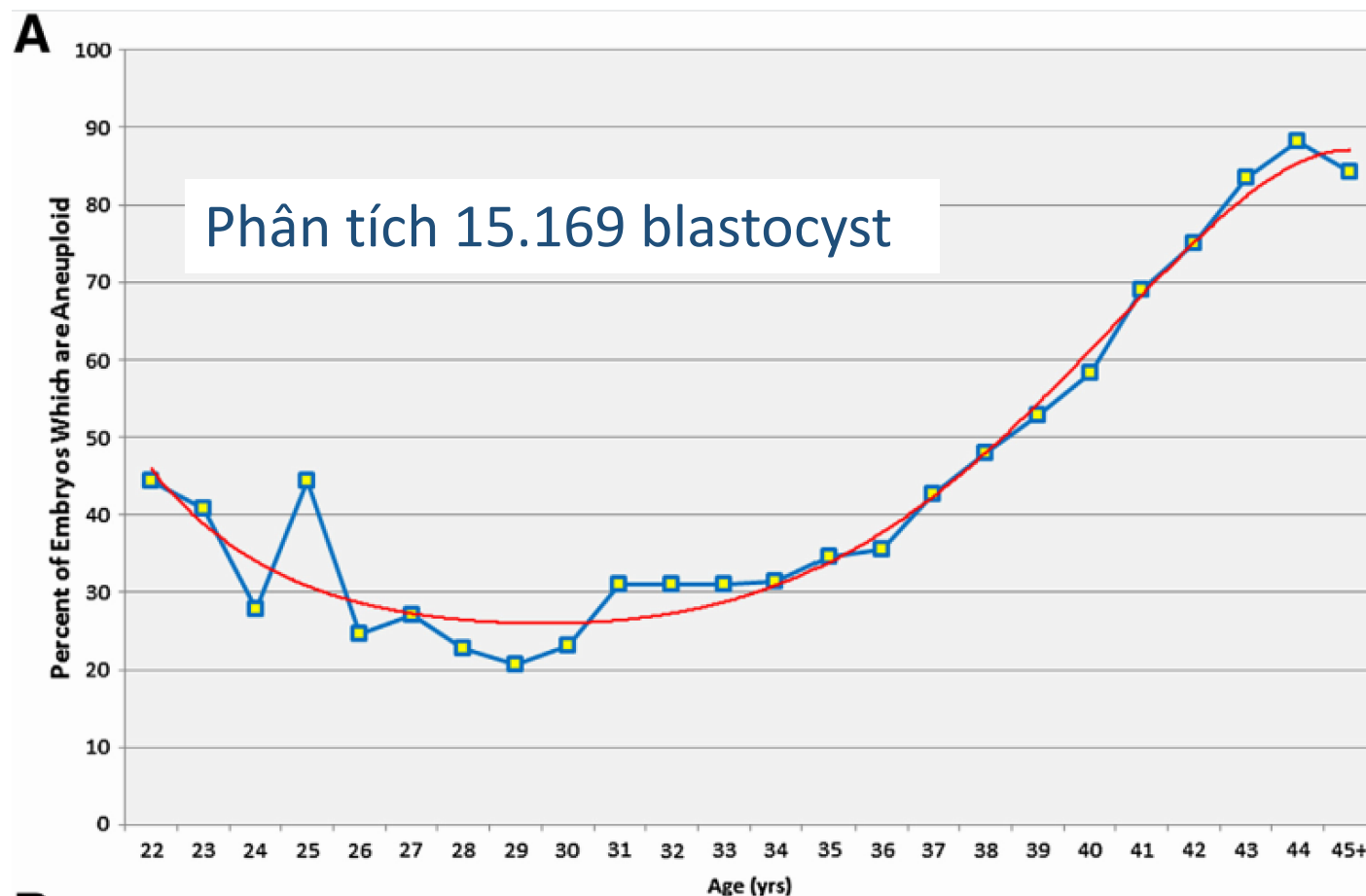
PGS RESULTS DISTRIBUTION



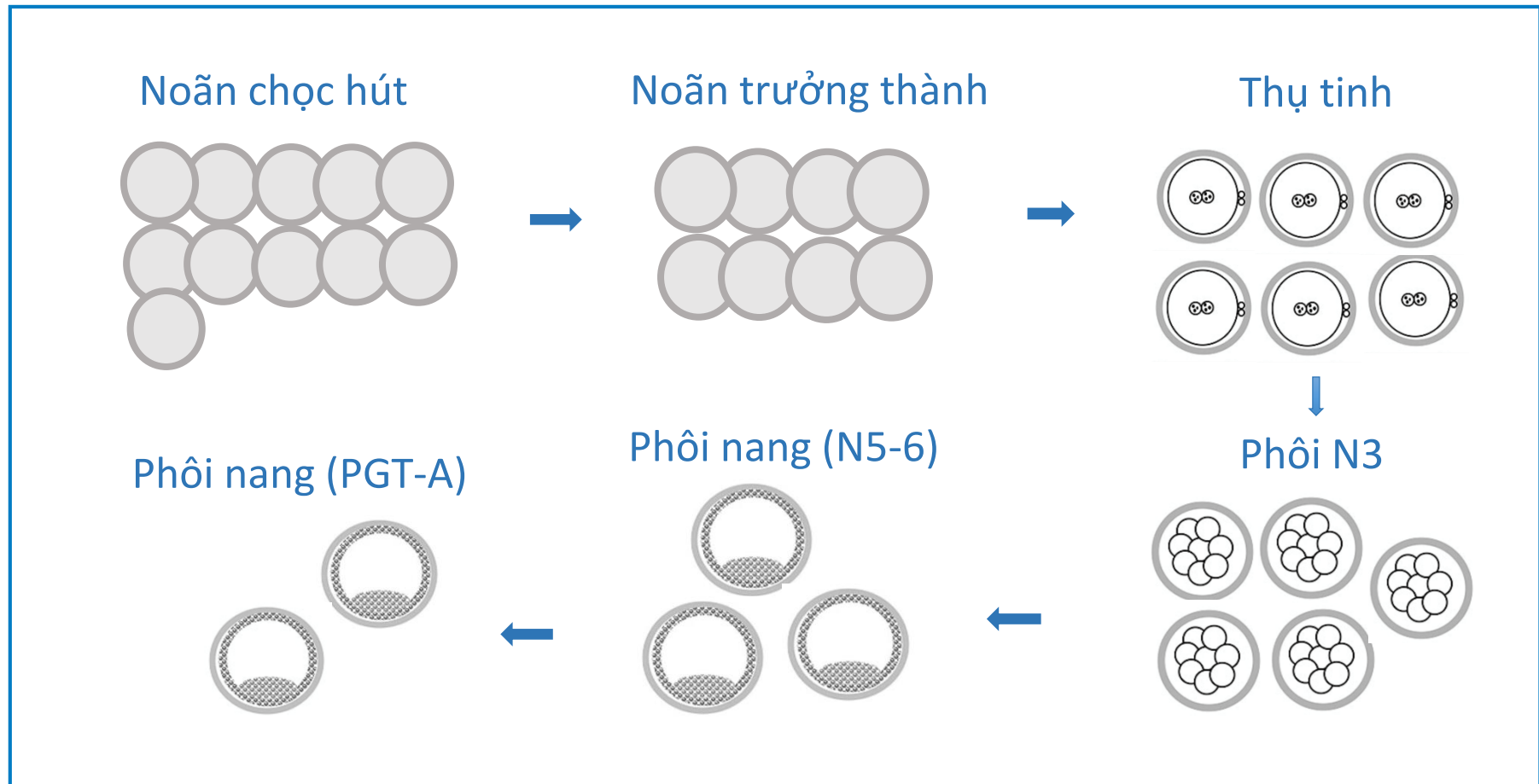
Internal CooperGenomics data of blastocyst biopsies tested via Next Generation Sequencing (2014-2017)



Tỉ lệ phôi bất thường số lượng NST tăng theo tuổi phụ nữ



PGT-A để chọn lựa phôi trong IVF



Bệnh lý đơn gen hiếm gặp

Định nghĩa

- Theo tổ chức Orphan Drug Act (1983): định nghĩa bệnh lý di truyền đơn gen hiếm gặp là bệnh có tần suất mắc bệnh $< 1 / 200\ 000$ người.
- Định nghĩa này cũng được dùng bởi Viện Y Tế Quốc Gia Hoa Kỳ (NIH)
- Đến nay có khoảng hơn 7000 bệnh lý được báo cáo



Ca lâm sàng 1. Bệnh Teo cơ tủy (Spinal Muscular Atrophy – SMA)

- Vợ TTBY, sinh năm 1992; Chồng LTĐ, sinh năm 1988
- PARA: 0200
- **2016:** bé trai 1200g, MLT lúc 36 tuần, theo dõi ở sơ sinh 2 tuần, sau đó về nhà. Đến tháng thứ 3, bé khó thở, nhập viện. Bé suy hô hấp dần dần, thở máy, tử vong sau 1 tháng.
- **2018:** bé trai 1900g, MLT lúc 35.5 tuần. Hậu phẫu ổn. Đến tháng thứ 2 bé bắt đầu khó thở, triệu chứng giống bé đầu tiên, được đưa vào BV NĐTP thở máy kéo dài 2 năm, bé mất 2020.



Ca lâm sàng 1. Bệnh Teo cơ tủy (Spinal Muscular Atrophy – SMA)

- **SMA:** Rối loạn di truyền. Người mắc bệnh không thể kiểm soát sự vận động của các cơ do mất các tế bào thần kinh trong tủy sống và thân não. Đây là một bệnh lý thần kinh và một loại bệnh lý của neuron thần kinh vận động.
- Ảnh hưởng đến 8.000-10.000 người trên toàn thế giới.
- **Triệu chứng:**
 - Có 4 loại SMA, tùy theo loại mà thời điểm xuất hiện, biểu hiện của triệu chứng và thời gian sống của cá thể mắc bệnh khác nhau
 - Yếu và run giật cơ
 - Khó thở, khó nuốt
 - Biến dạng chi, cột sống, lồng ngực do yếu cơ
 - Khó đứng, đi, ngồi



Các dạng SMA

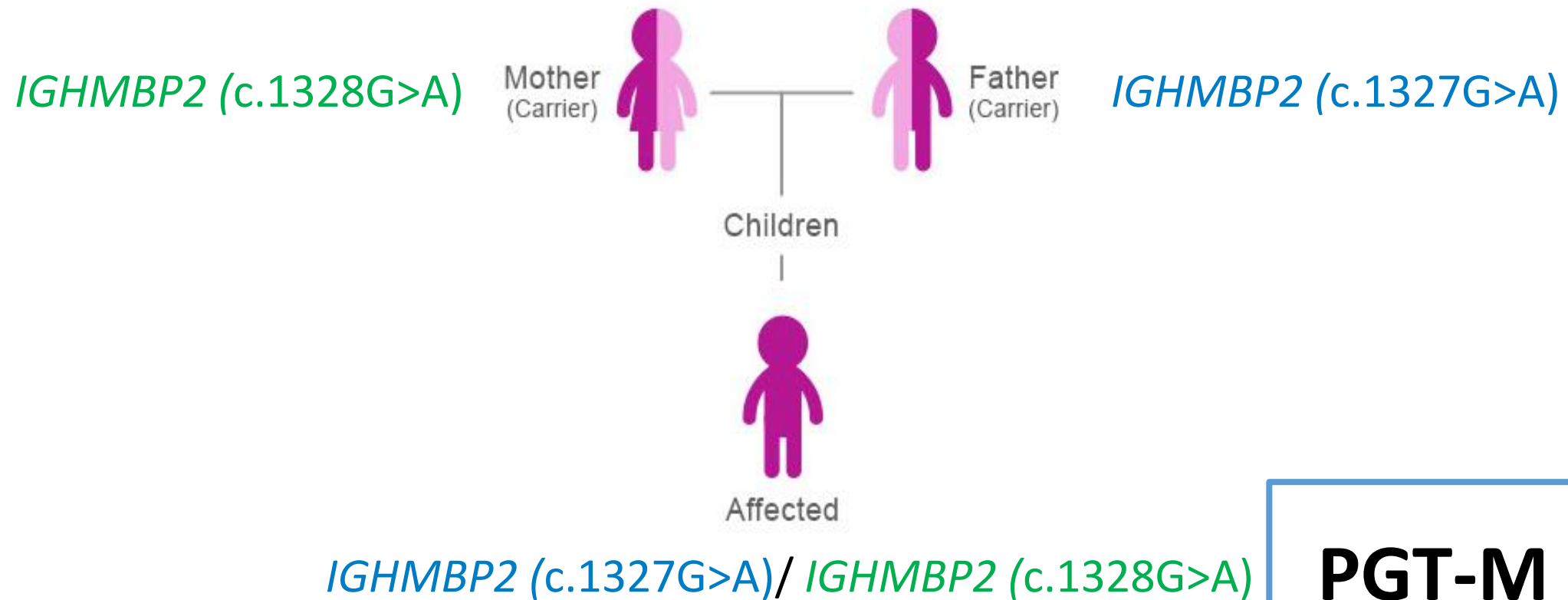
Table 1 Types of spinal muscular atrophy in humans (modified from [55])

SMA type	Inheritance	Gene/location	Phenotype/symptoms	Age at onset
SMA-1	AR	<i>SMN1</i> /5q11.2–13.3	Proximal muscle weakness, never sit unaided, death usually <2 years	Usually <9 months
SMA-2	AR	<i>SMN1</i> /5q11.2–13.3	Proximal muscle weakness, sit unaided but wheelchair bound, most survive to 2nd or 3rd decade	6–18 months
SMA-3	AR	<i>SMN1</i> /5q11.2–13.3	Proximal muscle weakness, walk unaided, slow progression with normal lifespan	Usually >48 months
Distal SMA	AR	11q13	Distal muscle weakness, involvement of diaphragm	2 months–20 years
SMARD	AR	<i>IGHBP2</i> /11q13.2	Distal lower limb and diaphragmatic weakness, sensory and autonomic neurons also affected	1–6 months
X-linked infantile SMA	X-linked	Xp11.3-q11.2	Arthrogryposis, respiratory insufficiency, scoliosis, chest deformities, LMN loss	At birth
Spino-bulbar SMA (Kennedy disease)	X-linked	Androgen receptor/Xq11.2–12	Proximal muscle weakness, LMN loss, loss of neurons in dorsal root ganglia, bulbar involvement	30–50 years
Distal SMA-4	AD	7p15	Distal muscle weakness of thenar and peroneal muscles	12–36 years
Congenital SMA	AD	12q23–24	Arthrogryposis, non-progressive weakness of distal muscles of lower limbs	At birth
SMA associated with mitochondrial mutation	Mitochondrial	Cytochrome-c oxidase (COX)	Hypotonia, lactic acidosis, respiratory distress, cardiomyopathia, COX deficiency	At birth

Simic, G. (2008). Pathogenesis of proximal autosomal recessive spinal muscular atrophy. *Acta Neuropathologica*, 116(3), 223–234.

Ca lâm sàng 1. TTBY (1992) – LTĐ (1988)

Con chẩn đoán mắc bệnh SMA



TTTON – chọc hút noãn ngày 31/05/2020

Số phôi tạo được: 05 phôi ngày 5

PGT-A + PGT-M: 04 phôi không mang gen bệnh

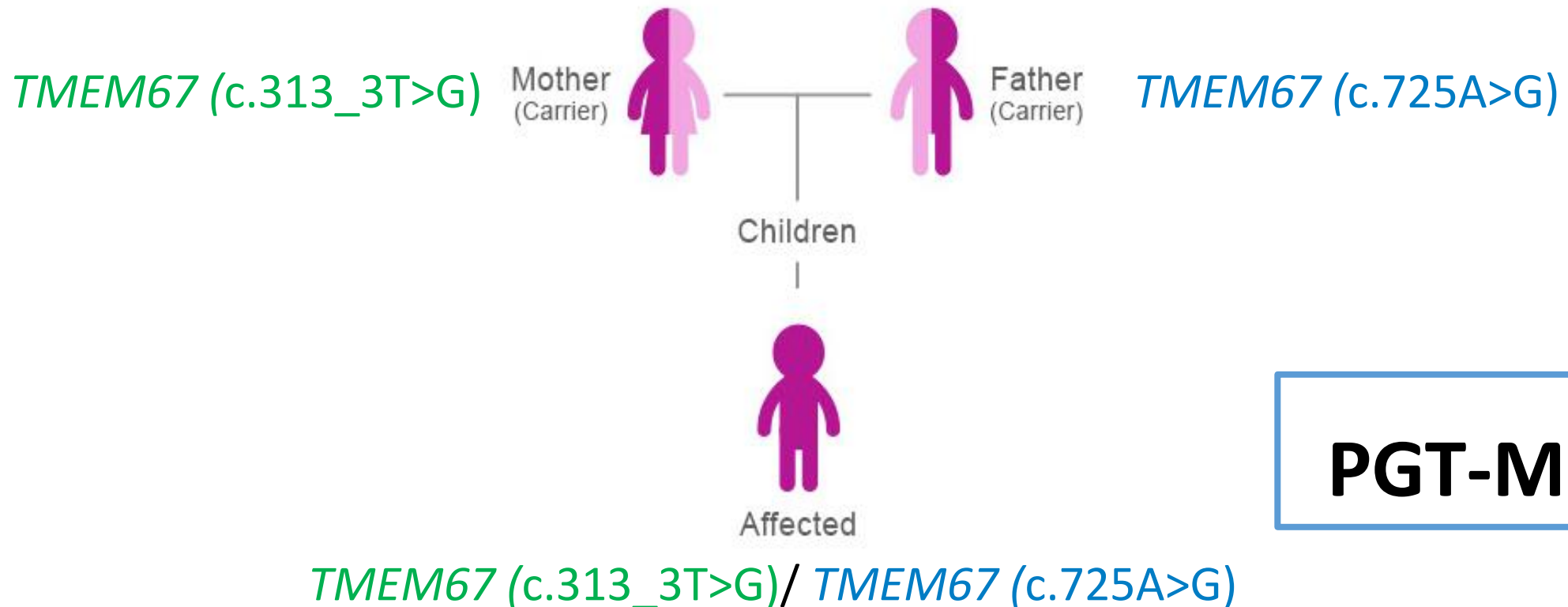
Ca lâm sàng 2. TTH (1982) – ĐTT (1978)

- Con lần 1 nghi hội chứng Joubert.
- Thai lần hai nghi ngờ tương tự với: thiếu sản thùy nhộng, thận đa nang
- Para: 1011
 - 2009, 1 bé có đột biến gen gây Joubert Syndrome
Chưa nói được, giãn hố não sau, đi được nhưng không chạy được
 - 8/2019, 1 lần bỏ thai do thai Joubert Syndrome



Ca lâm sàng 2. TTH (1982) – ĐTT (1978)

- Hội chứng Joubert



Chuyển 01 phôi nang không mang dị hợp tử kép *TMEM67* (c.313_3T>G)/*TMEM67* (c.725A>G) ngày 22/09/2020

Mổ lấy thai ngày 02/06/2021 lúc thai 38 5/7 tuần

Bé gái, cân nặng 2850gram, Apgar 8/9.

Xét nghiệm di truyền G4500 trên con sinh ra: không mang dị hợp tử kép *TMEM67* (c.313_3T>G)/*TMEM67* (c.725A>G), chỉ có dị hợp gen *TMEM67* (c.725A>G)

Ca lâm sàng 3. PTLC (1988) – PND (1988)

Con mất vì rối loạn chuyển hoá

- PARA 1000
- 01 ngày sau sinh bé được chuyển BV Nhi Đồng 1, và mất vào ngày tiếp theo.
- BV Nhi Đồng 1 nghi ngờ rối loạn chuyển hoá → Xét nghiệm C16 cao hơn bình thường.



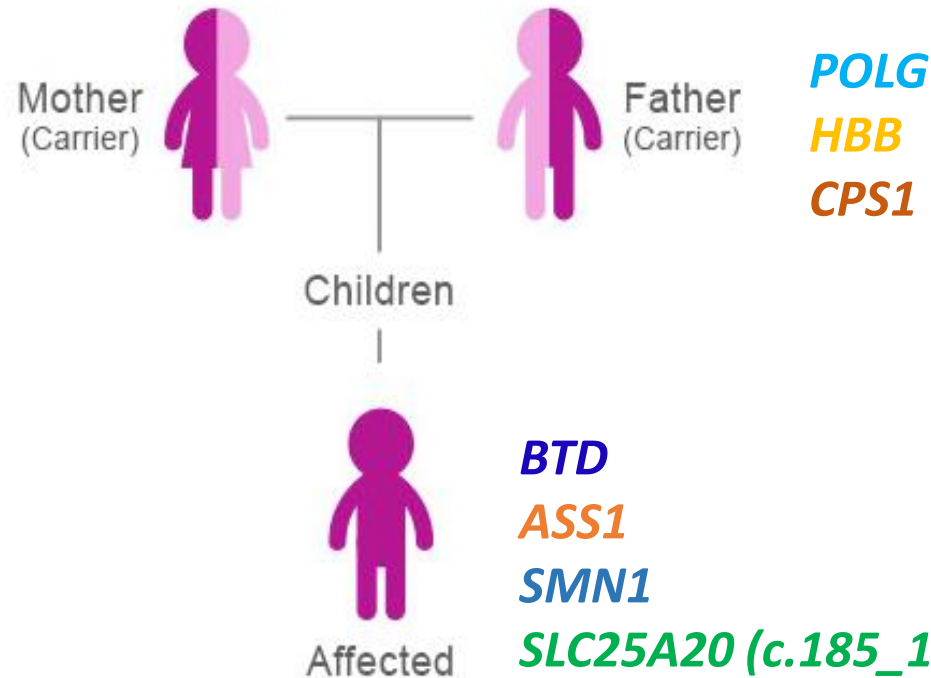
Ca lâm sàng 3. PTLC (1988) – PND (1988)

Con mất vì rối loạn chuyển hoá

PARA 1000. Sau sinh 1 ngày, bé co giật, tím, được chuyển BV Nhi Đồng 1, và mất vào ngày tiếp theo, nghi ngờ rối loạn chuyển hoá → Xét nghiệm C16 cao hơn bình thường.

Kết quả di truyền lần đầu

SLC25A20 (c.185_197del)
GJB2



Ca lâm sàng 3. PTLC (1988) – PND (1988)

Con mất vì rối loạn chuyển hoá

Con bị co giật, mất, nghi ngờ rối loạn chuyển hóa

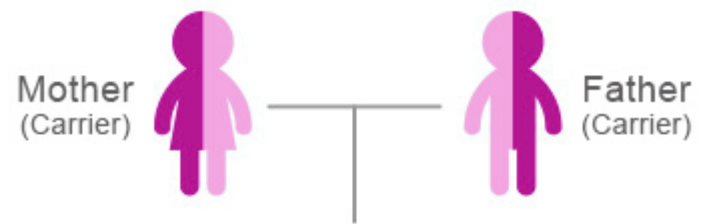
SLC25A20 (c.185_197del)
GJB2



POLG
HBB
CPS1



SLC25A20 (c.185_197del)
GJB2
CPT2 (c.1102G>A)



POLG
HBB
CPS1
SLC25A20 (c.646G>A)
CPT2 (c.1055T>G)
CPT2 (c.1102G>A)

Ca lâm sàng 3. PTLC (1988) – PND (1988)

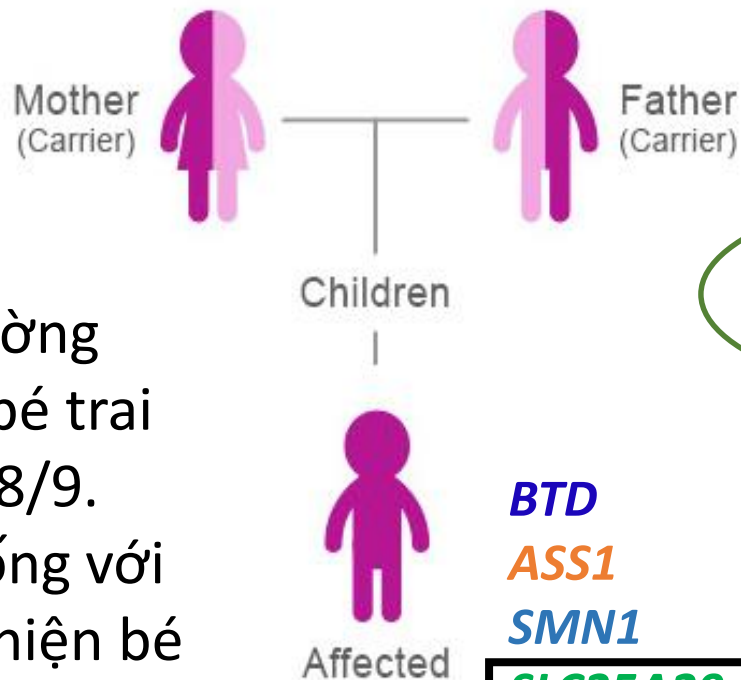
Con mất vì rối loạn chuyển hoá

Con bị co giật, mất, nghi ngờ rối loạn chuyển hóa

SLC25A20 (c.185_197del)

GJB2

CPT2 (c.1102G>A)



POLG

HBB

CPS1

SLC25A20 (c.646G>A)

CPT2 (c.1055T>G)

CPT2 (c.1102G>A)

BTB

ASS1

SMN1

SLC25A20 (c.185_197del)

SLC25A20 (c.646G>A)

CPT2 (c.1055T>G)

CPT2 (c.1102G>A)/CPT2 (c.1102G>A)

PGT-M

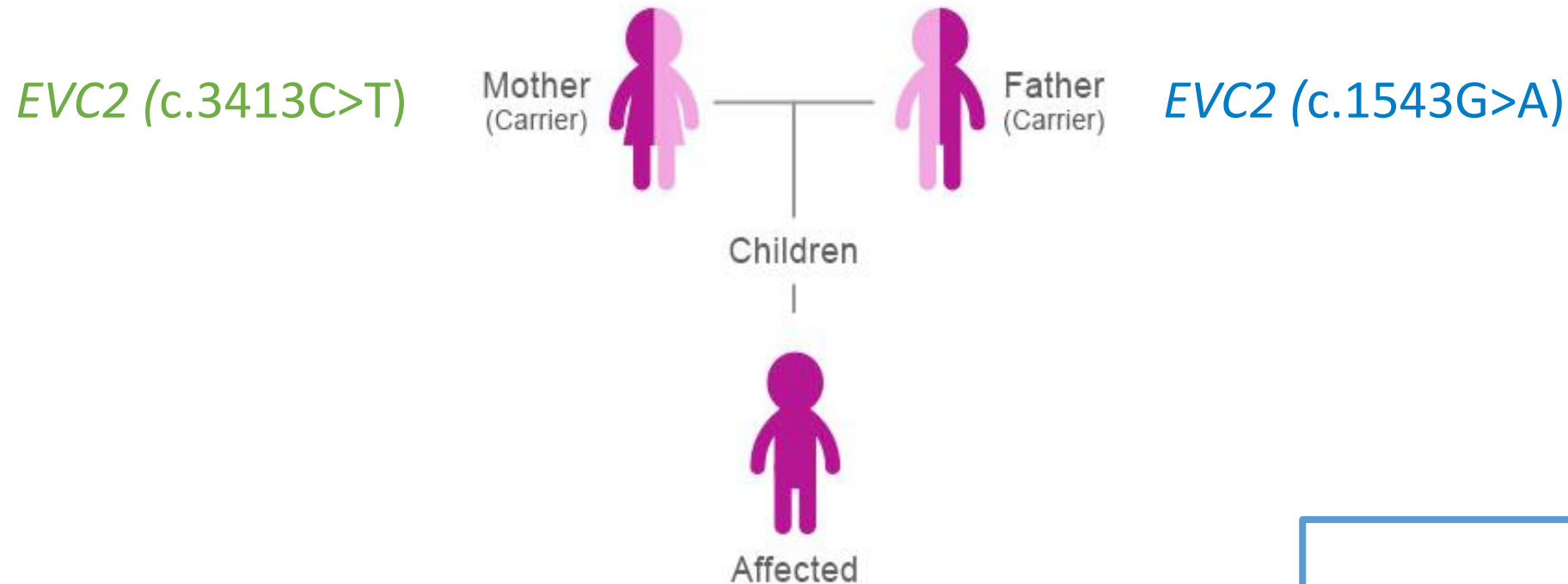


Ca lâm sàng 4. HTT (1992) – CXS (1990)

Thai lưu liên tiếp 8 lần

PARA: 0080 (8 lần thai lưu từ 5 -9 tuần trong 3 năm)

XN mô nhau thai của lần sảy thai thứ 6 lúc thai 8 tuần: đột biến gene **KMT2D**, **EVC2**



PGT-M

EVC2 (c.3413C>T)/ *EVC2* (c.1543G>A)



Ca lâm sàng 5. ĐTHA (1985) – ĐTD (1986)

Phù thai 3 lần

- Para: 0180
 - 1 lần PTNK
 - 2 lần thai lưu
 - 2 lần túi thai trống
 - 3 lần phù thai
 - 1 lần sanh thường, bé DTBS Tứ chứng Fallot, mất lúc 8 tháng



Ca lâm sàng 5. ĐTHA (1985) – ĐTD (1986)

Phù thai 3 lần

46XX, 15ps+, 16qh+, 22ps+

CYP21A2 (c.1179C>G)

TTN (c.68471C>A)

MET (c.13G>A)

del(16)(q24.2) : *JPH3*, *CA5A*

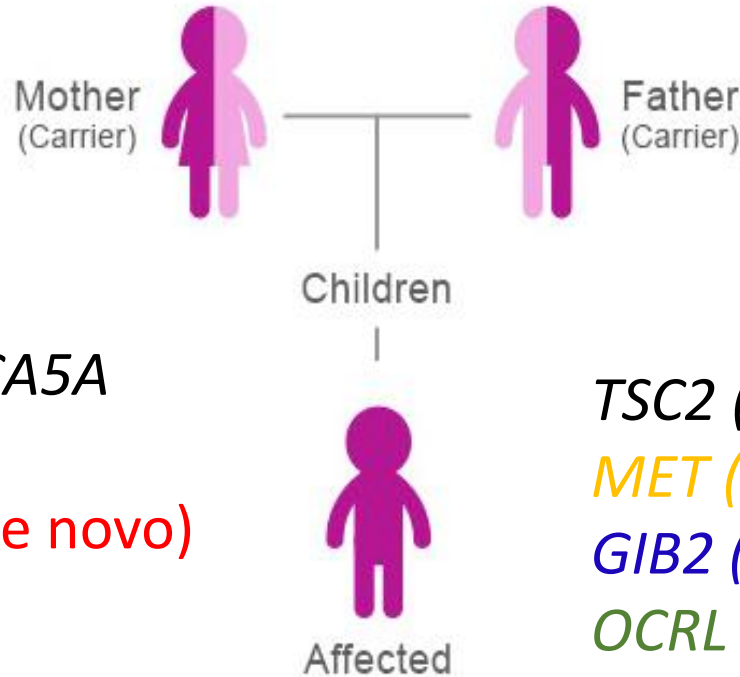
CYP21A2 (c.1179C>G)

CYP21A2 (c.821C>A) (De novo)

TTN (c.68471C>A)

TTN (c.26231A>G)

TTN (c.21589T>G)



CYP21A2 (c.1179C>G)

TTN (c.26231A>G)

TTN (c.21589T>G)

TSC2 (c.4256A>G)

TSC2 (c.4256A>G)

MET (c.13G>A)

GIB2 (c.109G>A)/*GIB2* (c.109G>A)

OCRL (c.265G>C)/*OCRL* (c.265G>C)

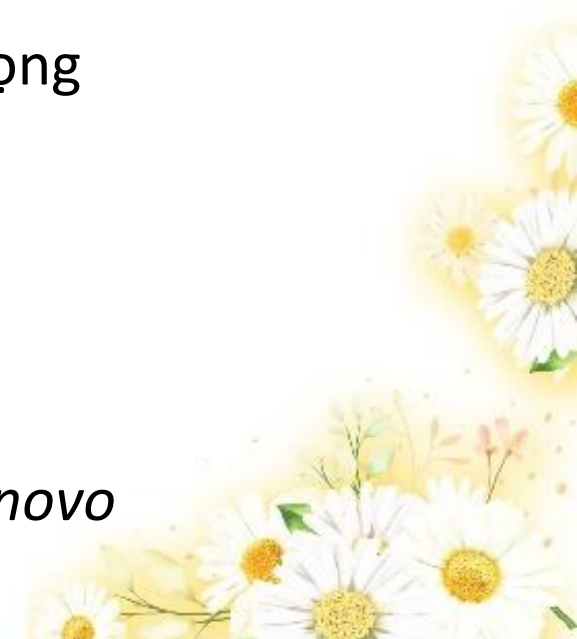
IGSF1 (c.1141A>C)/*IGSF1* (c.1141A>C)

PGT-M

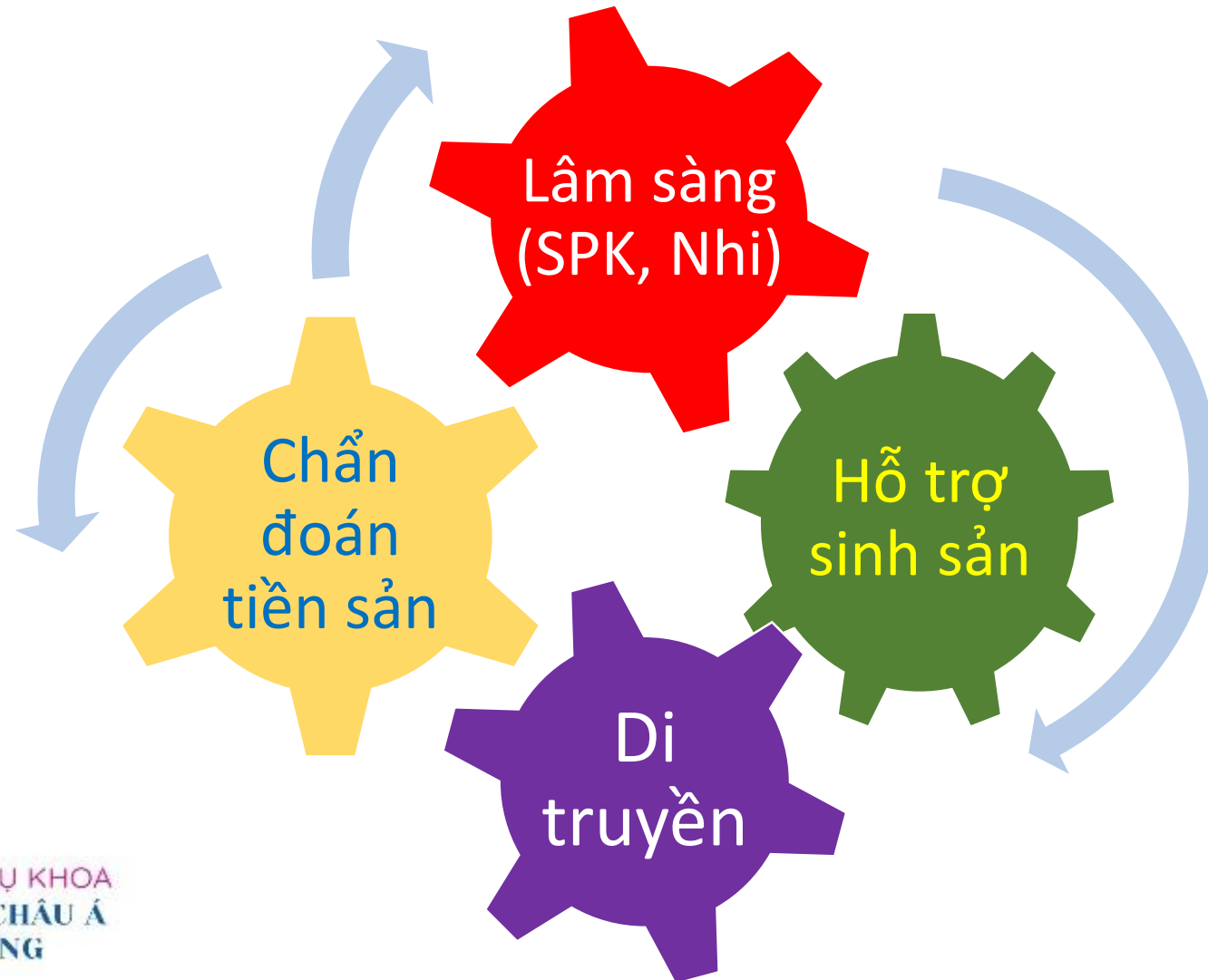
Chuyển 1 phôi bình thường. MLT 8/2/2021, bé gái 2800g, bình thường. CNVs và G4500 máu cuống rốn, tế bào niêm mạc má phù hợp kết quả PGT-M

Nhận xét chung

- Bệnh cảnh đa dạng, có thể đã được xác định loại bệnh lý di truyền, hoặc bệnh nhân đến vì vấn đề lâm sàng lặp lại.
- **Vật phẩm từ cá thể biểu hiện bệnh**: rất quan trọng
- Chẩn đoán kiểu gen gây bệnh: phối hợp nhiều công cụ, càng khảo sát nhiều gen, khả năng phát hiện bất thường càng cao
- Xét nghiệm di truyền tiền làm tổ
 - Qua 2 bước: PGT-A, PGT-M
 - Sản phẩm DNA đầu vào để chẩn đoán: quan trọng
 - Tư vấn ưu tiên chọn phôi để chuyển
- **Thai kỳ sau chuyển phôi** có PGT-A + PGT-M
 - Vẫn thực hiện xét nghiệm chẩn đoán tiền sản
 - Hiện tượng Allele drop out (ADO), biến thể *de novo*
 - Xét nghiệm di truyền bé sinh ra



Mô hình phối hợp liên chuyên khoa trong chẩn đoán và xử trí bệnh lý đơn gen hiếm gặp



Bé khỏe mạnh

Cải thiện chất
lượng nòi
giống

