

CHẨN ĐOÁN ĐỘT BIẾN DI TRUYỀN ĐƠN GEN GIAI ĐOẠN PHÔI TIỀN LÀM TỔ (PGT-M) TRONG LOẠI TRỪ GEN BỆNH THALASSEMIA: BÁO CÁO LOẠT CA

Đặng Quang Vinh^(1,2), Nguyễn Minh Tuấn⁽³⁾, Lưu Thị Minh Tâm⁽¹⁾, Phạm Thiếu Quân⁽²⁾, Trần Tú Cẩm⁽¹⁾, Huỳnh Gia Bảo⁽¹⁾, Hồ Mạnh Tường^(1,2)
(1)(2) HOPE Research Center, Bệnh viện Mỹ Đức, (3) Bệnh viện Nhi Đồng 1

DOI 10.46755/vjog.2019.1.601

Từ khóa: Thalassemia, PGT-M, thụ tinh trong ống nghiệm
Keywords: Thalassemia, PGT-M, in vitro fertilization.

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Thiếu máu tán huyết di truyền (thalassemia) là một bệnh lý huyết học đơn gen. Bệnh nhân cần được điều trị suốt đời và có thể tử vong nếu không tuân thủ điều trị. Tại Việt Nam, ước tính hiện nay có khoảng 20.000 người bị thalassemia thể nặng, mỗi năm có thêm khoảng 10 triệu người mang gen bệnh và hàng năm, có thêm trên 2.000 trẻ bị bệnh thalassemia chào đời. Kỹ thuật chẩn đoán đột biến di truyền đơn gen giai đoạn phôi tiền làm tổ (Preimplantation Genetic Testing for Monogenic disorders - PGT-M) ra đời, cho phép các cặp vợ chồng sau khi có phôi tử thụ tinh trong ống nghiệm (TTTON), lựa chọn những phôi không có đột biến gen gây bệnh để chuyển vào buồng tử cung người vợ giúp có thể sinh con không mang bệnh.

Mục tiêu: Đánh giá hiệu quả của chuyển phôi sau PGT-M trên bệnh nhân vô sinh mang gen bệnh thalassemia.

Phương pháp: Đây là một báo cáo loạt ca, thực hiện trong thời gian từ tháng 02/2017 đến tháng 05/2018 tại Đơn vị Hỗ trợ sinh sản Mỹ Đức (IVFMD), bệnh viện Mỹ Đức. Đối tượng bệnh nhân là những cặp vợ chồng có chỉ định làm TTTON và quá trình sàng lọc cho thấy cả hai có mang gen bệnh. Phôi ngày 5, hình thành sau TTTON, được tiến hành sinh thiết để lấy khoảng 5 tế bào lá nuôi. Các tế bào được gửi phân tích di truyền bằng công nghệ giải trình tự thế hệ mới (Next Generation Sequencing – NGS) qua hai giai đoạn, (1) xác định tình trạng lệch bội và (2) chẩn đoán bất thường đơn gen trên các phôi không lệch bội. Phôi được đông lạnh sau khi sinh thiết và những phôi nào không mang gen bệnh hay ở dạng dị hợp tử mới được sử dụng để chuyển vào buồng tử cung của người vợ. Yếu tố đánh giá kết quả chính là tỷ lệ sinh sống sau một chu kỳ chuyển phôi.

Kết quả: Trong thời gian nghiên cứu, có 17 cặp bệnh nhân thỏa tiêu chuẩn nhận loại. Số noãn chọc hút trung bình là $16,7 \pm 8,5$, với số phôi ngày 5 trung bình là $6,8 \pm 4,6$. Trong số 79 phôi được sinh thiết, có 50 (63,3%) phôi không bị lệch bội. Trong 50 phôi này, tỷ lệ phôi không

Tác giả liên hệ (Corresponding author):
Đặng Quang Vinh,
email: bsvinh.dq@myduchospital.vn
Ngày nhận bài (received): 10/07/2019
Ngày phản biện đánh giá bài báo (revised):
15/08/2019
Ngày bài báo được chấp nhận đăng
(accepted): 01/09/2019

mang gen đột biến hay ở dạng dị hợp tử lần lượt là 36% và 56%. Hiện có 7 trường hợp sinh sống được ghi nhận và 1 trường hợp có thai đang ở tuổi thai 33 4/7 tuần.

Kết luận: PGT-M có thể được áp dụng thường quy trên các cặp vợ chồng có mang gen gây bệnh thalassemia nhằm giúp có thể sinh con từ những phôi không mang gen bệnh, hạn chế các gánh nặng về kinh tế, tâm lý cho gia đình và xã hội.

Từ khóa: Thalassemia, PGT-M, thụ tinh trong ống nghiệm.

Abstract

PREIMPLANTATION GENETIC TESTING FOR MONOGENIC DISORDERS (PGT-M) IN INFERTILE COUPLES WHO ARE CARRIERS FOR THALASSEMIA

Background: Thalassemia is an inherited disorder, resulting in a long-life treatment and may lead to death if left untreated. It has been reported that more than 10 million Vietnamese people are carriers, resulted in more than 2.000 neonates affected by the disease born each year. Preimplantation Genetic Testing for Monogenic disorders (PGT-M) aims to characterize the genetic status of embryos resulting from in vitro fertilization (IVF) cycles. Embryos identified as unaffected for the thalassemia can be transferred to the uterus.

Objectives: To evaluate the effectiveness of transferring embryos after PGT-M in infertile couples who are carriers for thalassemia.

Methods: This case-series study was conducted at My Duc IVF clinic (IVFMD), My Duc Hospital, Ho Chi Minh City, Viet Nam. Infertile couples undergoing IVF treatment, diagnosed as carriers for thalassemia, were included. Embryo biopsy was performed on day 5 after egg retrieval. Biopsied cells were first screened for aneuploidy. Only euploidy samples were then undergone PGT-M. Next generation sequencing (NGS) was used in both steps. Biopsied embryos were then frozen. Only unaffected embryos were then transferred. Primary outcome was live birth after the first embryo transfer.

Results: Between February 2017 and May 2018, there were 17 infertile couples included in this trial. The wife's mean age was 33.4 ± 5.9 , with infertility duration of 4.3 ± 4.0 years. Mean number of oocytes retrieved was 16.7 ± 8.5 and mean number of day-5 embryos was 6.8 ± 4.6 . Out of 79 biopsied embryos, 50 (63.3%) were euploid. Among these euploid embryos, the rate of unaffected and heterozygous embryos were 36% and 56%, respectively. Currently, there are 7 live birth reported and 1 case at her 33 4/7 gestational age.

Conclusion: PGT-M could be used for couples who are carriers for thalassemia to reduce the burdens of economy on patients, family and on society.

Keywords: Thalassemia, PGT-M, in vitro fertilization.

1. Đặt vấn đề

Thiếu máu tán huyết di truyền (thalassemia) là một bệnh lý di truyền, liên quan đến các rối loạn trong tổng hợp hemoglobin, dẫn đến sự thiếu hụt hay vắng mặt các chuỗi globin (12). Vì liên quan đến gen lặn nằm trên nhiễm sắc

thể thường nên sẽ có những người không có biểu hiện bệnh lý nhưng mang gen bệnh trong cơ thể ở dạng dị hợp tử. Báo cáo năm 2008 của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) cho thấy ước tính có khoảng 5,2% dân số trên thế giới mang gen

bệnh và khoảng 1% dân số có nguy cơ mắc bệnh thalassemia (13). Việt Nam, nằm trong khu vực Đông Nam Á, nên cũng thuộc vùng dịch tễ của bệnh lý này. Tỷ lệ người Việt Nam mang gen bệnh thay đổi tùy theo từng nghiên cứu, do sự khác biệt về quần thể nghiên cứu cũng như nơi tiến hành, tại bệnh viện hay cộng đồng (7). Tuy nhiên, báo cáo năm 2019 của Viện Huyết học Truyền máu Trung ương cho thấy hiện nay, ước tính có 12 triệu người Việt Nam đang mang gen bệnh, trong khi đó, con số này 5 năm trước đó chỉ ở khoảng 5 triệu người (1).

Điều cần lưu ý là trẻ sinh ra từ những cặp vợ chồng cùng mang gen gây bệnh dưới dạng dị hợp tử sẽ có nguy cơ khoảng 25% mắc bệnh thalassemia (12). Đây là một bệnh lý gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến chất lượng cuộc sống và sự phát triển lâu dài của trẻ, để lại nhiều gánh nặng cho gia đình và xã hội. Quản lý bệnh thalassemia bao gồm việc phòng ngừa các trường hợp bệnh mới, điều trị và quản lý lâu dài bệnh nhân đã có. Tuy nhiên, cải thiện kết quả điều trị và quản lý lâu dài đòi hỏi rất nhiều nguồn lực. Ngoài ra, tầm soát toàn bộ quần thể là một việc khó khả thi. Do đó, các chương trình kiểm soát thường được tiến hành ở mức độ dự phòng cấp II, nghĩa là tầm soát và chẩn đoán trước sinh, từ đó, khống chế tỷ lệ hiện mắc thông qua giảm số ca mắc bệnh mới (5). Tuy nhiên, chiến lược dự phòng này thường dẫn đến việc chấm dứt thai kỳ khi thai nhi được chẩn đoán xác định. Điều này có thể để lại một số sang chấn về tâm lý, ảnh hưởng đến tương lai sản khoa của người phụ nữ cũng như có thể gây ra một số tranh cãi về mặt tôn giáo.

Các vấn đề nêu trên có thể được khắc phục bằng kỹ thuật chẩn đoán đột biến di truyền đơn gen giai đoạn phôi tiền làm tổ (PGT-M). Về bản chất, đây là một kỹ thuật được phát triển từ những năm đầu của thập niên 1990 (2). Trong đó, phôi được tạo thành từ thụ tinh trong ống nghiệm (TTON) sẽ được sinh thiết lấy ra vài tế bào để gửi đi làm chẩn đoán di truyền các bệnh lý đã biết trước. Những phôi không chứa các gen đột biến đã được kiểm tra sẽ được sử dụng để chuyển vào buồng tử cung (BTC) người vợ. Kết quả là trẻ sinh ra sẽ không bị mắc bệnh hay thậm chí có thể không chứa gen bệnh đã được kiểm tra. Báo cáo của Liên đoàn Vô

sinh Thế giới vào năm 2016 cho thấy ước tính có khoảng trên 25.000 chu kỳ PGT-M được thực hiện, tăng cao hơn so với báo cáo năm 2013 (4). Tại Đơn vị Hỗ trợ sinh sản Mỹ Đức (IVFMD), bệnh viện Mỹ Đức, chúng tôi đã triển khai kỹ thuật PGT-M từ năm 2016. Bài nghiên cứu này nhằm mục đích đánh giá hiệu quả bước đầu của ứng dụng kỹ thuật PGT-M trong loại trừ bệnh thalassemia trên những cặp vợ chồng có chỉ định làm TTON và có mang gen bệnh.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đây là một báo cáo loạt ca, được thực hiện trong thời gian từ tháng 02 năm 2017 đến tháng 05 năm 2018 tại Đơn vị Hỗ trợ sinh sản Mỹ Đức (IVFMD), bệnh viện Mỹ Đức, thành phố Hồ Chí Minh. Đối tượng nghiên cứu là những cặp vợ chồng hiếm muộn có (1) chỉ định điều trị bằng kỹ thuật TTON, (2) quá trình sàng lọc cho thấy cả hai vợ chồng mang gen bệnh và (3) đồng ý thực hiện kỹ thuật PGT-M.

Tất cả các cặp vợ chồng có chỉ định TTON sẽ được sàng lọc thường quy nguy cơ bệnh thalassemia thông qua huyết đồ. Nếu có nghi ngờ, hai vợ chồng sẽ được xác định bằng phương pháp giải trình tự gen và đồng thời tạo đoạn mồi tại labo di truyền. Nếu kết quả phân tích di truyền cho thấy cả hai vợ chồng đều mang gen bệnh, cặp vợ chồng được tư vấn về các nguy cơ và lợi ích của kỹ thuật. Nếu đồng ý tham gia, hai vợ chồng được mời ký bản đồng thuận và bắt đầu quá trình điều trị.

Vào ngày 2 hay ngày 3 của chu kỳ kinh, người vợ được kích thích buồng trứng (KTBT) với phác đồ ngắn (phác đồ GnRH đối vận), sử dụng FSH tái tổ hợp. Khi có ít nhất 3 nang noãn với kích thước 17 mm trở lên, 6.500 IU hCG hay 0,2 mg GnRH đồng vận được sử dụng để khởi động trưởng thành noãn. Chọc hút noãn được tiến hành tại thời điểm 36 giờ sau đó. Noãn sau chọc hút được thụ tinh với tinh trùng bằng kỹ thuật tiêm tinh trùng vào bào tương noãn. Phôi được nuôi trong môi trường đơn bước đến ngày 5 (sau khi chọc hút noãn), giai đoạn phôi nang. Vào ngày 5 sau chọc hút, khoảng 5 tế bào lá nuôi (trophectoderm cell – TE) trong mỗi phôi được lấy ra ngoài bằng

kỹ thuật sinh thiết, sử dụng hệ thống laser. Phôi sau sinh thiết được đông lạnh và lưu trữ riêng biệt từng phôi. Các tế bào lá nuôi được chuyển qua labo di truyền. Tại đây, chúng được tầm soát lệch bội bộ NST và sau đó, chỉ những mẫu có bộ NST nguyên bội mới được tiến hành xác định sự hiện diện của gen bệnh bằng công nghệ giải trình tự thế hệ mới (NGS).

Trong chu kỳ kinh tiếp theo, bệnh nhân được chuẩn bị niêm mạc tử cung để chuyển phôi trữ bằng nội tiết ngoại sinh (estradiol valerate kết hợp micronized progesterone). Vào ngày chuyển phôi, một phôi không chứa gen bệnh được rã đông và chuyển vào buồng tử cung dưới hướng dẫn siêu âm. Hai tuần sau chuyển phôi, bệnh nhân được thử thai. Nếu kết quả dương tính, bệnh nhân được hẹn siêu âm sau 3 tuần. Hỗ trợ hoàng thể được duy trì đến tuần thứ 7 của thai kỳ. Sau đó, thai phụ được theo dõi thường quy tại phòng khám Sản, bệnh viện Mỹ Đức cho đến khi sinh.

Kết cục chính của nghiên cứu là tỷ lệ sinh sống sau chu kỳ chuyển phôi đầu tiên. Các kết cục phụ bao gồm tỷ lệ phôi lệch bội, tỷ lệ phôi không mang gen bệnh, tỷ lệ phôi mang gen bệnh thể dị hợp tử, tỷ lệ beta hCG dương tính, tỷ lệ thai lâm sàng, tỷ lệ đa thai, tỷ lệ làm tổ, tỷ lệ sảy thai, tỷ lệ thai dị tật bẩm sinh.

3. Kết quả

Trong thời gian từ tháng 02/2017 đến 05/2018, có 18 cặp vợ chồng thỏa tiêu chuẩn và đồng ý tham gia nghiên cứu. Đặc điểm bệnh nhân được trình bày trong Bảng 1. Người vợ trong các trường hợp này thuộc nhóm tiên lượng tốt, tuổi < 35 tuổi và có dự trữ buồng trứng bình thường. Có tất cả 79 phôi ngày 5 (phôi nang) được tạo thành, với số phôi nang trung bình là $6,8 \pm 4,6$ phôi, tỷ lệ tạo phôi nang là 53,1%. Các kết quả TTON được trình bày trong Bảng 2. Tất cả các phôi nang đều được tiến hành sinh thiết. Tỷ lệ phôi có bộ NST nguyên bội là 63,3% (bảng 3). Ba bệnh nhân có 100% phôi có bộ NST lệch bội nên không được tiến hành phân tích gen bệnh tiếp theo và không được chuyển phôi. Trong số 50 phôi có bộ NST nguyên bội (của 15 bệnh nhân còn lại), kết quả phân tích di

truyền cho thấy có 18 (36%) phôi không mang gen bệnh và 28 (56%) phôi mang gen bệnh ở dạng dị hợp tử (Biểu đồ 1).

Kết quả chuyển phôi trữ được trình bày trong Bảng 4. Trong số 15 bệnh nhân quay lại chuyển phôi lần đầu tiên, có 8 trường hợp thai diễn tiến (đến 12 tuần) và đã có 7 trường hợp có kết quả sinh. Một trường hợp còn lại đang ở tuổi thai 33 4/7 tuần tại thời điểm viết bài. Các kết cục sản khoa của 7 trường hợp đã sinh được trình bày trong Bảng 5. Trong số 7 trường hợp thất bại với chu kỳ chuyển phôi đầu tiên, có 4 bệnh nhân vẫn còn ít nhất 1 phôi trữ.

Bảng 1. Đặc điểm nền của bệnh nhân

| Đặc điểm | Giá trị |
|--|------------|
| Tuổi vợ trung bình (năm) | 33,4 ± 5,9 |
| Chỉ số khối cơ thể (BMI, kg/m ²) | 20,7 ± 2,4 |
| Thời gian vô sinh trung bình (năm) | 4,3 ± 4,0 |
| Nồng độ AMH (ng/ml) | 4,1 ± 3,6 |
| Loại vô sinh | |
| Nguyên phát | 2 (11,1) |
| Thứ phát | 16 (88,9) |
| Chỉ định TTON | |
| Ổng dẫn trứng | 5 (27,8) |
| Bất thường tinh trùng | 7 (38,9) |
| Giảm dự trữ buồng trứng | 1 (5,5) |
| Khác | 5 (27,8) |
| Loại thalassemia | |
| Alpha | 8 (44,4) |
| Beta | 10 (55,6) |

AMH: Anti Mullerian Hormone. Số liệu được trình bày dưới dạng số trung bình ± ĐLC hay số tuyệt đối (%).

Bảng 2. Kết quả thụ tinh trong ống nghiệm

| Kết quả | Giá trị |
|-----------------------------|------------|
| Số noãn chọc hút trung bình | 16,7 ± 8,5 |
| Số noãn ICSI | 14,1 ± 8,5 |
| Tỷ lệ thụ tinh | 87,5 |
| Số phôi nang trung bình | 6,8 ± 4,6 |
| Số phôi nang loại 1 + 2 | 2,9 ± 2,1 |

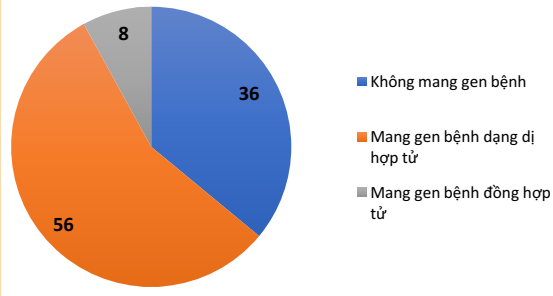
Số liệu được trình bày dưới dạng số trung bình ± ĐLC hay số tuyệt đối (%)

Bảng 3. Kết quả phân tích nhiễm sắc thể

| Kết quả di truyền | Giá trị (n = 79 phôi) |
|---------------------|-----------------------|
| Nguyên bội | 50 (63,3) |
| Lệch bội | 20 (25,3) |
| Thể khảm | 3 (3,8) |
| Bất thường cấu trúc | 6 (7,6) |

Số liệu được trình bày dưới dạng số tuyệt đối (%)

Biểu đồ 1. Kết quả phân tích gen bệnh (n = 50 phôi nguyên bào)



Bảng 4. Kết quả chuyển phôi trữ

| | |
|----------------------|----------|
| Số phôi chuyển | 1 |
| Tỷ lệ thai lâm sàng | 9 (60) |
| Tỷ lệ đa thai | 0 |
| Tỷ lệ làm tổ | 9 (60) |
| Tỷ lệ thai diễn tiến | 8 (53,3) |
| Tỷ lệ sinh sống* | 7 (46,7) |

* 1 trường hợp đang mang thai ở tuần thứ 33 4/7 của thai kỳ

Bảng 5. Kết cục sản khoa

| STT | Bệnh nhân | Tuổi thai khi sinh | Phương pháp sinh | Giới tính | Cân nặng | Apgar | Bất thường ghi nhận |
|-----|----------------|--------------------|------------------|-----------|----------|-------|---------------------|
| 1. | L.T.H.V., 1989 | 38 5/7 tuần | Mổ lấy thai | Trai | 3300g | 8/9 | - |
| 2. | B.T.P.H., 1988 | 38 0/7 tuần | Sinh ngã âm đạo | Gái | 3000g | 8/9 | - |
| 3. | N.T.M.T., 1988 | 37 6/7 tuần | Mổ lấy thai | Gái | 2800g | 7/9 | - |
| 4. | P.T.H., 1981 | 38 5/7 tuần | Mổ lấy thai | Trai | 3200g | 8/9 | - |
| 5. | T.T.M., 1989 | 37 6/7 tuần | Sinh ngã âm đạo | Gái | 2900g | 8/9 | - |
| 6. | N.V.T.L., 1995 | 36 4/7 tuần | Mổ lấy thai | Gái | 2700g | 8/9 | - |
| 7. | Đ.T.T., 1987 | 38 6/7 tuần | Mổ lấy thai | Gái | 3000g | 8/9 | - |

4. Bàn luận

Thalassemia là một bệnh lý di truyền và theo NST lặn và để lại nhiều hậu quả nghiêm trọng. Đây là bệnh lý đơn gen phổ biến nhất trên thế giới, đặc biệt lưu hành với tần suất cao tại khu vực Đông Nam Á, Địa Trung Hải. Thalassemia cũng đã được Tổ chức Y tế thế giới xác định là vấn đề sức khỏe nghiêm trọng và khuyến cáo các nước thuộc khu vực Đông Nam Á nên chọn là một trong các vấn đề ưu tiên sức khỏe di truyền người (13). Tại Việt Nam, kết quả bước đầu khảo sát tình trạng mang gen bệnh thalassemia trên toàn quốc năm 2017, cho thấy có khoảng trên 12

triệu người mang gen bệnh. Hiện nay, có trên 20.000 người bị thalassemia cần phải điều trị cả đời và mỗi năm có thêm khoảng 8.000 trẻ em sinh ra bị bệnh thalassemia, trong đó có khoảng 2.000 trẻ bị bệnh mức độ nặng và khoảng 800 trẻ không thể ra đời do phù thai. Chi phí điều trị trung bình cho một bệnh nhân thể nặng từ khi sinh ra tới 30 tuổi hết khoảng 3 tỷ đồng. Số liệu ước tính mỗi năm, ngân sách y tế cần chi 2.000 tỷ đồng để cho tất cả bệnh nhân có thể được điều trị duy trì ở mức tối thiểu (1). Do đó, công tác dự phòng và quản lý bệnh thalassemia hiện đang được quan tâm trong những năm gần đây.

Các chiến lược dự phòng hiện nay tại các quốc gia đa số tập trung vào dự phòng cấp II, nghĩa là khi thai phụ có thai thì sẽ tiến hành đánh giá nguy cơ của hai vợ chồng qua huyết đồ. Nếu thai nhi thuộc dạng nguy cơ cao thì có thể tiến hành chẩn đoán trước sinh và sẽ chấm dứt thai kỳ nếu trẻ được xác định là mắc bệnh thalassemia. Từ đó, có thể khống chế tỷ lệ hiện mắc thông qua giảm số ca mắc bệnh mới. Trong một nghiên cứu trên 44.439 thai phụ đến khám thai và tầm soát bằng xét nghiệm huyết đồ tại Từ Dũ, tỷ lệ thalassemia được xác định là 1,7% (7). Một điểm cần lưu ý là trong nghiên cứu này, có đến 95% cặp vợ chồng là thuộc dân tộc Kinh. Trong khi đó, một khảo sát trên đối tượng phụ nữ Cơ Tu trong độ tuổi sinh sản tại Huế, cho thấy có đến 56,1% người mang gen bệnh (8). Như vậy, với chiến lược dự phòng như hiện nay, nếu triển khai một cách hiệu quả và đồng bộ, số trường hợp phải chấm dứt thai kỳ ở tuổi thai 16 – 17 tuần là không nhỏ, với nhiều nguy cơ tiềm ẩn trước mắt và lâu dài.

Sự phát triển của TTON và các công nghệ phân tích di truyền, mà gần đây là giải trình tự thế hệ mới đã góp phần thúc đẩy các kỹ thuật chẩn đoán di truyền phôi tiền làm tổ, được gọi tắt là PGT (Preimplantation Genetic Testing), trong đó, có chẩn đoán đột biến di truyền đơn gen, PGT-M. Được báo cáo lần đầu tiên vào năm 1990 (2), đến nay kỹ thuật PGT nói chung và PGT-M nói riêng đã trở nên một phần không thể thiếu của các trung tâm TTON. Với PGT-M, các trở ngại với chương trình dự phòng cấp II cho bệnh lý thalassemia có thể được giải quyết

một cách triệt để, khi chỉ những phôi nào được tạo ra sau TTON và không chứa gen bệnh hay ở dạng dị hợp tử mới được sử dụng để chuyển vào BTC. Tại Việt Nam, báo cáo đầu tiên về ứng dụng PGT-M trên bệnh lý thalassemia được ghi nhận vào năm 2016. Trong số 9 trường hợp bố mẹ có gen thalassemia được điều trị TTON kết hợp PGT-M, các tác giả ghi nhận có 2 trường hợp đã sinh bé (6).

Tuy nhiên, khi triển khai PGT-M, một số vấn đề về kỹ thuật cần lưu ý. Trong khi hiện nay, công nghệ giải trình tự gen thế hệ mới đã giúp nâng cao tính chính xác của kết quả phân tích cũng như rút ngắn thời gian phân tích, công việc nuôi phôi đến ngày 5 và sinh thiết phôi vẫn đóng một vai trò quan trọng. Ngày càng có nhiều bằng chứng ủng hộ cho việc sinh thiết phôi vào giai đoạn ngày 5, thay vì ngày 3 như trước đây (9,10). Tuy nhiên, việc sinh thiết phôi vào giai đoạn ngày 5 đòi hỏi trung tâm TTON phải có một quy trình nuôi cấy phôi hiệu quả và ổn định để đảm bảo có phôi phát triển vào ngày 5. Hiện nay, tỷ lệ phát triển thành phôi nang tại IVFMD là khoảng 50%. Ngoài ra, vì sinh thiết ngày 5, nên phôi sau khi sinh thiết cần được đông lạnh trong thời gian chờ kết quả phân tích di truyền. Do đó, chương trình trữ lạnh-rã đông cũng phải ổn định để không ảnh hưởng đến khả năng làm tổ của phôi sau rã đông.

Ngoài ra, tính an toàn của kỹ thuật cũng cần được quan tâm, bên cạnh ưu điểm là có khả năng loại trừ bệnh thalassemia cho trẻ hay thậm chí, góp phần loại trừ gen bệnh lưu hành trong cộng đồng. Một điều may mắn là các dữ liệu hiện nay bước đầu chưa ghi nhận tác động có hại của kỹ thuật trên trẻ chào đời. Trong một nghiên cứu trên 88.010 trẻ sinh ra từ TTON đơn thuần và trẻ sinh ra từ PGT-M tại Anh, số liệu cho thấy nguy cơ (đã hiệu chỉnh với các yếu tố gây nhiễu) sinh non và nhẹ cân ở nhóm PGT-M thấp hơn so với nhóm TTON đơn thuần, lần lượt là aOR 0,66 KTC 95% 0,45-0,98 và aOR 0,58 KTC 95% 0,38-0,88 (11). Một báo cáo gần đây nhất khi so sánh sự phát triển về thể

chất, tâm thần và vận động của trẻ đến 5 tuổi ở 3 nhóm, PGT-M, TTON đơn thuần và trẻ sinh ra từ các chu kỳ tự nhiên cho thấy tỷ lệ dị tật bẩm sinh, phát triển thể chất và thần kinh ở 3 nhóm là tương đương nhau. Riêng nhóm trẻ TTON đơn thuần bắt đầu ngồi được sớm hơn so với 2 nhóm còn lại (3).

Một vấn đề ngoài kỹ thuật cần lưu ý khi áp dụng PGT-M đó là nguy cơ không có phôi chuyển. Sự tiến bộ của kỹ thuật chẩn đoán di truyền ngày nay đã cho phép kết hợp giữa tầm soát lệch bội (PGT-A) và chẩn đoán bệnh lý di truyền đơn gen (PGT-M) trên cùng một mẫu sinh thiết. Điều này có thể làm tăng hiệu quả của một chu kỳ chuyển phôi (9). Tuy nhiên, việc kết hợp này cũng dẫn đến nguy cơ bệnh nhân không có phôi bình thường nào để chuyển. Trong số 15 bệnh nhân trong báo cáo này, có đến 3 trường hợp không có phôi bình thường để chuyển sau khi phân tích di truyền. Đây là một vấn đề cần được tư vấn, giải thích rõ ràng, thấu đáo cho bệnh nhân, nhất là trong bối cảnh chi phí cho một chu kỳ TTON có kết hợp PGT-M hiện nay là khá tốn kém và tại Việt Nam, bệnh nhân phải chi trả hoàn toàn. Ngoài ra, vấn đề xử lý các phôi không được sử dụng cũng cần được bàn luận và có sự đồng thuận của gia đình từ trước khi điều trị.

5. Kết luận

Chẩn đoán di truyền đột biến đơn gen giai đoạn phôi tiền làm tổ là một kỹ thuật tiềm năng, có thể được áp dụng trong việc loại trừ triệt để nguy cơ bệnh lý thalassemia trên các cặp vợ chồng mang gen bệnh, ngay trước khi thai nhi được hình thành. Do đó, góp phần giảm bớt các gánh nặng về tinh thần, thể chất cũng như các sang chấn sản khoa liên quan đến việc phải chấm dứt thai kỳ. Tuy nhiên, trước khi tiến hành, cần có sự tư vấn đầy đủ, rõ ràng về các nguy cơ và lợi ích của kỹ thuật cho bệnh nhân. Các dữ liệu hiện nay cho thấy đây là một kỹ thuật an toàn, tuy nhiên, cần nhiều bằng chứng hơn nữa, với một thời gian đánh giá và theo dõi kéo dài.

Tài liệu tham khảo

1. Bạch Quốc Khánh (2019). Kiểm soát thalassemia tại Việt Nam: hiện trạng – giải pháp. Hội nghị khoa học toàn quốc về thalassemia lần III, Viện Truyền máu huyết học trung ương, Hà Nội, 24-25/4/2019.
2. Handyside AH, Kontogianni EH, Hardy K and Winston RML (1990). Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. *Nature* 344:768-770.
3. Heijligers M, Peeters A, van Montfoort A et al (2019). Growth, health, and motor development of 5-year-old children born after preimplantation genetic diagnosis. *Fertil Steril*. 111:1151-1158.
4. International Federation of Fertility Societies (2016). IFFS Surveillance 2016. *Global Reproductive Health* 1:e1.
5. Joint SOGC-CCMG Clinical Practice Guideline (2008). Carrier Screening for Thalassemia and Hemoglobinopathies in Canada. *J Obstet Gynaecol Can* 30:950–959
6. Ngô Trường Giang (2016). Kết quả ứng dụng quy trình chẩn đoán bệnh di truyền trước chuyển phôi bệnh Thalassemia tại Học viện Quân y. Báo cáo tại Hội nghị Hội nghị khoa học toàn quốc về Thalassemia lần II, Hòa Bình 25-26/11/2016.
7. Nguyễn Khắc Hàn Hoan (2013). Nghiên cứu tầm soát và chẩn đoán trước sinh bệnh alpha và beta thalassemia, Luận án tiến sỹ y học, Đại học Y Dược Tp. Hồ Chí Minh, Tp. Hồ Chí Minh.
8. Nguyen NT, Sanchaisuriya K, Sanchaisuriya P, et al (2017). Thalassemia and hemoglobinopathies in an ethnic minority group in Central Vietnam: implications to health burden and relationship between two ethnic minority groups. *J Community Genet*. 8:221–228.
9. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine and the Society for Assisted Reproductive Technology (2018). The use of Preimplantation Genetic Testing for aneuploidy (PGT-A): a committee opinion. *Fertil Steril* 109:429-36.
10. Scott RT, Upham KM, Forman EJ, Zhao T and Treff NR (2013). Cleavage-stage biopsy significantly impairs human embryonic implantation potential while blastocyst biopsy does not: a randomized and paired clinical trial. *Fertil Steril*. 100:624-30.
11. Sunkara SK, Antonisamy B, Selliah HY and Kamas MS (2017). Pre-term birth and low birth weight following preimplantation genetic diagnosis: analysis of 88 010 singleton live births following PGD and IVF cycles. *Hum Reprod*. 32:432-438.
12. Weatherall DJ, Clegg JB (2001). Inherited hemoglobin disorders: an increasing global health problem. *Bulletin World Health Organ* 79:704–712
13. World Health Organization (2008). Worldwide prevalence of anaemia 1993–2005: WHO global database on anaemia, <http://www.who.int/vmnis/anaemia/prevalence/en>.