

TÍNH ĐA HÌNH NHIỄM SẮC THỂ Ở CÁC CẶP VỢ CHỒNG CÓ TIỀN SỬ SẴY THAI VÀ THAI CHẾT LƯU

Đoàn Thị Kim Phượng^{1,2}, Phạm Thế Vương³, Vũ Thị Hà^{1,2}, Hoàng Thị Ngọc Lan^{1,2}

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện Đại học Y Hà Nội

³Bệnh viện Phụ sản Hà Nội

Tính đa hình nhiễm sắc thể dễ bị bỏ sót khi phân tích do các dạng đa hình phong phú hoặc dễ bị nhầm lẫn với các đột biến nhiễm sắc thể. Nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu: xác định tỷ lệ và mô tả các dạng đa hình của nhiễm sắc thể ở các cặp vợ chồng có tiền sử sảy thai, thai chết lưu. Công thức nhiễm sắc thể của 1157 cặp vợ chồng bị ST, TCL một lần hoặc nhiều lần được xác định bằng kỹ thuật nhuộm băng G và phân tích đa hình theo tiêu chuẩn ISCN – 2016. Kết quả cho thấy có 249/2314 mẫu có tính đa hình bao gồm các dạng: qh+, inv, ps+, pstk+, qh-, cenh+, extra band, fra... Trong đó dạng biến đổi qh+ (67,2%) và inv(9) (17,2%) chiếm tỷ lệ cao hơn các dạng đa hình khác. Tỷ lệ đa hình của nhóm ST, TCL một lần so với nhóm ST, TCL hai hoặc ba lần, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê $p < 0,05$. Tỷ lệ đa hình NST tăng lên theo số lần ST, TCL. Điều này gợi ý rằng ở các cặp vợ chồng có tiền sử ST, TCL nên được phân tích NST và chú ý đến tính đa hình của NST.

Từ khóa: Sảy thai, thai chết lưu, đa hình nhiễm sắc thể.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sảy thai (ST), thai chết lưu (TCL) có thể do nhiều nguyên nhân, trong đó, đột biến nhiễm sắc thể (NST) đóng vai trò chủ yếu gây ra thai sảy, thai chết lưu trong ba tháng đầu thai kì. Xét nghiệm và phân tích NST ở những cặp vợ chồng này đang được ứng dụng nhằm tìm ra nguyên nhân gây sảy thai, thai chết lưu để đưa ra lời khuyên di truyền góp phần nâng cao chất lượng sinh sản ở cộng đồng và xã hội.

Ngoài các đột biến về số lượng và cấu trúc NST gây ST, TCL, hiện nay các nghiên cứu về tính đa hình nhiễm sắc ở người cho thấy tính đa hình NST có thể gây ra những ảnh hưởng lâm sàng nhất định như vô sinh hay sảy thai

tự nhiên. Tính đa hình NST bao gồm các kích thước khác nhau của các khối dị nhiễm sắc, vùng vệ tinh, vùng có trình tự lặp lại, thường gặp ở NST số 1, 9, 16, Y. Đây được xem là dạng biến thể bình thường trong bộ NST người và có thể di truyền được.¹ Tuy nhiên ngày càng có nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng tỷ lệ đa hình nhiễm sắc thể ở nhóm ST, TCL cao hơn so với nhóm những người không có tiền sử bất thường sinh sản này.^{2,3}

Một số nghiên cứu khác cũng đã chỉ ra rằng các biến đổi dị nhiễm sắc ở nhánh dài các NST 1, 9, 16 có liên quan tới vô sinh.^{4,5} Tuy nhiên, tính đa hình NST dễ bị bỏ sót khi phân tích do các dạng đa hình phong phú hoặc dễ bị nhầm lẫn với các đột biến NST. Với mong muốn đóng góp thêm vào dữ liệu các dạng đa hình NST và làm sáng tỏ vai trò của tính đa hình NST trong sảy thai, thai chết lưu, chúng tôi thực hiện nghiên cứu “Phân tích tính đa hình nhiễm sắc

Tác giả liên hệ: Đoàn Kim Phượng,

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: doankimphuong@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 10/10/2020

Ngày được chấp nhận: 03/12/2020

thể ở các cặp vợ chồng có tiền sử sảy thai và thai chết lưu” với mục tiêu: Xác định các dạng đa hình của NST ở các cặp vợ chồng có tiền sử sảy thai, thai chết lưu.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Tiêu chuẩn lựa chọn: Các cặp vợ chồng (2314 người) có tiền sử ST, TCL của những lần mang thai tự nhiên, sảy thai và/ hoặc thai chết lưu chưa rõ nguyên nhân, đến làm xét nghiệm nhiễm sắc thể đồ tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội, đồng ý tham gia nghiên cứu.

Tiêu chuẩn loại trừ: là các cặp vợ chồng đã rõ nguyên nhân sảy thai, thai chết lưu, mắc bệnh tự miễn, dị dạng cơ quan sinh dục, nhiễm trùng, nội tiết, đông máu.

Các cặp vợ chồng có tiền sử sảy thai, thai chết lưu được điền phiếu thông tin, lấy 2 mL máu ngoại vi để nuôi cấy xét nghiệm NST, phân tích 20 cụm kỳ giữa cho mỗi mẫu để phát hiện tính đa hình nhiễm sắc thể. Các tiêu chuẩn phân tích và kết luận dựa theo tiêu chuẩn ISCN - 2016 (An International System for Human Cytogenetic Nomenclature).

2. Phương pháp

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu thử nghiệm can thiệp lâm sàng ngẫu nhiên, có đối chứng.

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 8 năm 2015 đến hết tháng 7 năm 2020

Địa điểm nghiên cứu: Nghiên cứu được tiến hành tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội.

Phương pháp chọn mẫu và cỡ mẫu: Chọn mẫu thuận tiện và tuyển chọn được 1157 cặp vợ chồng đủ tiêu chuẩn và đồng ý tham gia nghiên cứu.

3. Xử lý số liệu

Các số liệu được mã hóa nhập vào máy vi tính, xử lý và kiểm tra độ chính xác bằng các phương pháp thống kê Y học. Số liệu được xử lý theo chương trình SPSS 16.0.

4. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu tuân thủ các quy định về đạo đức trong nghiên cứu y sinh của Trường Đại học Y Hà Nội. Các thí nghiệm trong nghiên cứu tuân thủ theo đúng các quy trình, quy tắc phòng thí nghiệm.

III. KẾT QUẢ

1. Kết quả phân tích tính đa hình nhiễm sắc thể

Trong tổng số 2.314 đối tượng nghiên cứu có 249 mẫu đa hình, trong đó có 6 trường hợp đa hình ở hai nhiễm sắc thể (một người có hai đa hình ở hai NST khác nhau) và 243 trường hợp đa hình ở một nhiễm sắc thể. Tỷ lệ đa hình chung trong nghiên cứu là 10,8%. Tỷ lệ đa hình NST ở nam là 130/1157 người, chiếm 11,24%, nhiều hơn nữ là 10,29% (119/1157 người). Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,461$.

2. Các loại nhiễm sắc thể có tính đa hình và phân bố của chúng theo giới

Bảng 1. Tỷ lệ đa hình của các nhiễm sắc thể khác nhau

Nhiễm sắc thể	Số trường hợp có tính đa hình nhiễm sắc thể			
	Nam	Nữ	Tổng	Tỷ lệ
1	49	60	109	42,7%
9	51	39	90	35,3%
16	4	9	13	5,1%
Y	13	0	13	5,1%

Nhiễm sắc thể	Số trường hợp có tính đa hình nhiễm sắc thể			
	Nam	Nữ	Tổng	Tỷ lệ
13	3	2	5	2,0%
14	3	1	4	1,6%
15	5	2	7	2,7%
21	3	4	7	2,7%
22	3	3	6	2,4%
6	1	0	1	0,4%
Tổng	135	120	255	100%

Tỷ lệ đa hình ở NST số 1 là nhiều nhất, tiếp đến là nhiễm sắc thể số 9, 16, Y. Các nhiễm sắc thể tâm đầu (như cặp NST số 13, 14, 15, 21, 22) gặp với tỷ lệ ít hơn. Chỉ có một trường hợp đa hình ở nhiễm sắc thể số 6. Không thấy đa hình ở NST số 2, 3, 10. Phân bố NST có tính đa hình theo giới cũng có sự khác biệt. Ở nam giới gặp nhiều hơn đa hình ở NST số 9 và 15. Trong khi ở nữ giới gặp đa hình ở NST số 1 và 16 nhiều hơn. Chỉ nam giới mới có đa hình ở NST Y.

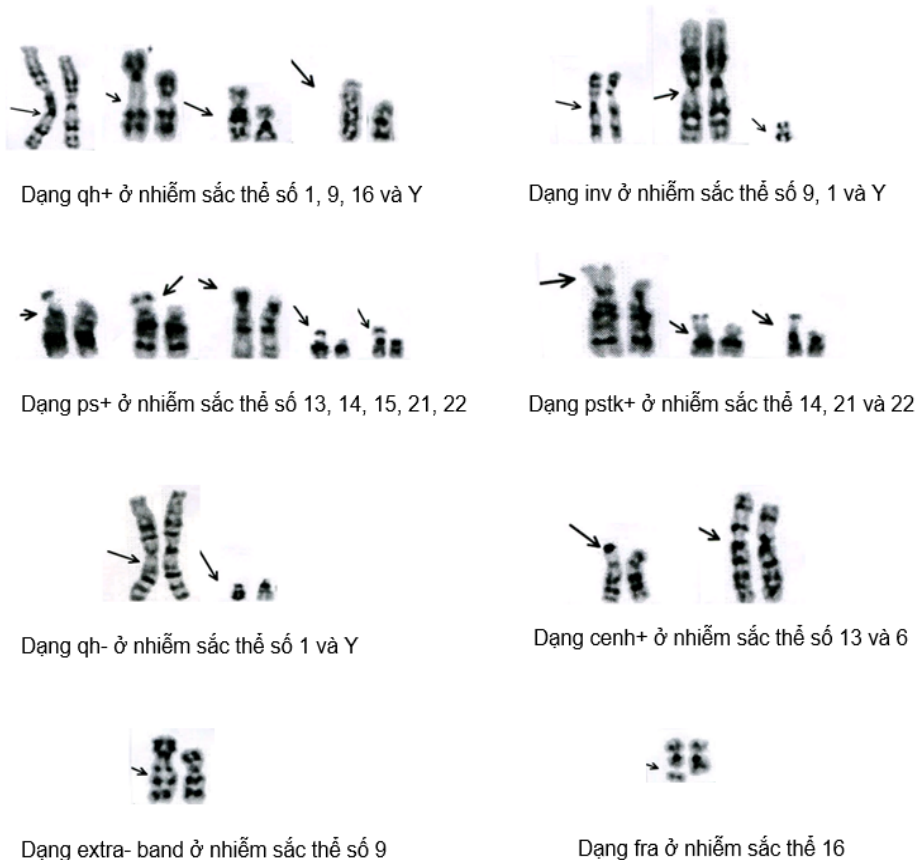
3. Các dạng biến đổi của tính đa hình nhiễm sắc thể

Bảng 2. Tỷ lệ các dạng biến đổi của tính đa hình nhiễm sắc thể

Dạng biến đổi	Số trường hợp có tính đa hình nhiễm sắc thể			
	Nam	Nữ	Tổng	Tỷ lệ
qh+	91	81	172	67,4%
inv	19	25	44	17,2%
ps+	9	5	14	5,5%
pstk+	7	6	13	5,1%
qh-	5	2	7	2,7%
extra band	1	1	2	0,8%
cenh +	2	0	2	0,8%
fra	1	0	1	0,4%
Tổng	135	120	255	100%

Dạng biến đổi qh+ là hay gặp nhất chiếm tỷ lệ 67,2%. Dạng inv gặp nhiều thứ 2 mà chủ yếu là inv (9) chiếm 17,2%. Dạng ps+ và pstk+ gặp với tỷ lệ như nhau 5,5%. Loại đa hình ít gặp nhất là fra (16) chiếm 0,4%.

Hình ảnh các dạng đa hình NST số 1, 9, 16 và Y dễ nhầm lẫn với đột biến nhân đoạn nhiễm sắc thể. Ở NST nhóm D và nhóm G, hình ảnh các đa hình ps+ và pstk+ có kích thước lớn dễ gây nhận định nhầm lẫn với bất thường cấu trúc NST (Hình 1).



Hình 1. Các dạng đa hình nhiễm sắc thể quan sát thấy trong nghiên cứu

4. Tỷ lệ tính đa hình nhiễm sắc thể theo số lần sảy thai, thai chết lưu

Bảng 3. Tỷ lệ đa hình theo số lần sảy thai, thai chết lưu

Các nhóm bất thường sinh sản	Số trường hợp có tính đa hình NST (n)	Tỷ lệ (%)
ST, TCL 1 lần	44/598	7,4
ST, TCL 2 lần	138/1168	11,8
ST, TCL ≥ 3 lần	67/548	12,23

Tỷ lệ đa hình của nhóm ST, TCL 1 lần so với nhóm ST, TCL 2 lần khác biệt có ý nghĩa thống kê $p < 0,05$. Tỷ lệ đa hình của nhóm ST, TCL 1 lần so với nhóm ST, TCL ≥ 3 lần khác biệt có ý nghĩa thống kê $p < 0,05$.

IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu trên 1157 cặp vợ chồng có tiền sử sảy thai và thai chết lưu có 249 trường hợp

có tính đa hình nhiễm sắc thể, chiếm 10,8%. Một số nghiên cứu của các tác giả khác về tính đa hình NST trên các đối tượng có tiền sử sảy thaitai chết lưu thì tỷ lệ dao động quanh khoảng 9 - 10 %. Tỷ lệ gặp đa hình ở nhóm có bất thường sinh sản cao hơn gấp khoảng ba lần so với nhóm chứng. Tính đa hình nhiễm sắc thể có thể di truyền cho thế hệ sau qua phân chia tế bào, nên ở các nhiễm sắc thể thường

tỷ lệ đa hình NST sẽ là ngang nhau ở hai giới nam và nữ.⁵

Trong các dạng đa hình nhiễm sắc thể, dạng qh+ chiếm tỷ lệ cao nhất 67,2%. Nghiên cứu của Hemlata Purandare (2011)³ và của Y. Hong (2011)² cùng cộng sự cũng tương tự kết quả của chúng tôi có tỷ lệ qh+ cao nhất, tương ứng là 40,35% và 71,32%. Vùng dị nhiễm sắc như vùng q12 ở nhiễm sắc thể số 1, 9, Y; vùng q11.² ở nhiễm sắc thể 16 có kích thước tương đối lớn, nên các thay đổi ở vùng này như dài ngắn ở nhiều mức độ khác nhau sẽ tạo ra sự chênh lệch về độ dài vùng dị nhiễm sắc giữa hai nhiễm sắc thể tương đồng, có thể làm tăng nguy cơ tiếp hợp không hoàn toàn của các NST tương đồng tạo ra giao tử bất thường. Các vùng dị nhiễm sắc có kích thước lớn như thế cũng dễ gây nhầm lẫn chẩn đoán với đột biến nhân đoạn hay đột biến cấu trúc.

Đảo đoạn NST số 9 được coi là biến thể bình thường của NST và không liên quan đến bất thường ở kiểu hình, nhưng trong nhiều công trình công bố trước thì có nhiều quan điểm trái ngược nhau về vấn đề đảo đoạn inv(9) (p12q13) có liên quan đến khả năng sinh sản và vô sinh. Đảo đoạn quanh tâm NST số 9 được coi là nguyên nhân quan trọng dẫn đến sự không phân chia nhiễm sắc thể, và có tác động đến quá trình sinh tinh trùng ở các mức độ khác nhau từ vô tinh đến tạo ra các biến đổi nặng nề về hình dạng, độ di động của tinh trùng và tạo giao tử bất thường trong giảm phân. Ngay ở dạng inv(9) cũng chia làm nhiều dạng như inv(9)(p12q13), inv(9)(p11q12), inv(9)(p11q13), inv(9)(p12q12). Ở mỗi dạng tác động đến bất thường thai sản lại khác nhau. Dạng inv(9)(p11q12) và inv(9)(p11q13) một số tác giả cho rằng tác động đến vô sinh nam nhiều hơn do vùng p11 có chứa một số gen mã hóa cho protein liên quan đến quá trình sinh tinh. Neha và cộng sự nghiên cứu trên 400 đối tượng sảy

thai, thai chết lưu phát hiện 5 trường hợp inv(9), trong khi đó nhóm chứng không phát hiện trường hợp nào.⁶

Đối với các NST nhóm D và G, tỷ lệ đa hình ở NST 15, 21, 22 là gặp với tỷ lệ cao hơn NST 13, 14. Kết quả này tương tự với kết quả của Hemlata Purandare và cộng sự (2011) gặp chủ yếu ở NST 15 và 223. Trong các dạng ps+ và pskt+, chúng tôi thấy dạng ps+ ở nhiễm sắc thể 15 có kích thước vệ tinh rất lớn, thậm chí kích thước bằng với NST số 21. Vì vậy trong phân tích karyotype chẩn đoán trước sinh, cần thận trọng và đánh giá chính xác, nên kết hợp các xét nghiệm phân tử như Microarray, QF-PCR và NST của bố mẹ trong trường hợp nghi ngờ 15ps+, tránh nhầm lẫn với chuyển đoạn hòa nhập tâm của nhiễm sắc thể 15 và 21.

Trong các loại NST, NST số 1 có tỷ lệ đa hình cao nhất 42,7%, tương tự như công bố của tác giả Hemlata Purandare (2012) cùng cộng sự. Theo sau biến đổi của NST số 1 là biến đổi của NST số 9, chiếm 36,1% trong tổng số các trường hợp có tính đa hình NST. Extra band ở nhiễm sắc thể số 9 là biến thể rất hiếm gặp, tỷ lệ 0,24% trong quần thể,⁶ được Dundar M. và cộng sự báo cáo 2 trường hợp extra band NST số 9 có sảy thai liên tiếp.⁷ Trong nghiên cứu này chúng tôi cũng quan sát thấy 2 trường hợp extra band ở nhiễm sắc thể số 9 ở phụ nữ có sảy thai ở những tuần thai rất sớm. Những trường hợp này nên kết hợp thêm xét nghiệm nhiễm sắc thể từ rau thai sảy thai chết lưu để tìm mối liên quan của biến thể này với ST, TCL. Tỷ lệ đa hình của NST Y chiếm 5,2% trong tổng số các trường hợp có tính đa hình NST với các dạng Yqh+, Yqh- và inv(Y). Trong một số nghiên cứu khác như của H. Akbas cũng phát hiện 4 trường hợp Yqh+ trong số 442 đối tượng ST, TCL.⁸ Nghiên cứu của Yamini và cộng sự năm 2012 trên 400 đối tượng ST, TCL cũng phát hiện một trường hợp inv(Y).⁹ Vì

trí đứt ở nhánh dài trong đảo đoạn nhiễm sắc thể Y gần các nhóm gen CDY, DAZ thuộc vùng AZFc tại vị trí Yq11.223- đây là các gen liên quan đến sản xuất tinh trùng ở nam giới nên đảo inv(Y)(p11.2q11.2) có liên quan nhiều đến vô sinh nam giới. Tính đa hình của NST Y biến thiên lớn nên dạng đa hình Yqh- dễ nhầm lẫn với dạng đột biến mất đoạn trên nhánh dài NST Y del(Yq) gây vô tinh hoặc thiếu tinh. Vì vậy, các trường hợp đa hình Yqh- cần làm thêm các xét nghiệm loại trừ del(Yq) như xét nghiệm đột biến vùng gen AZF.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ đa hình NST có sự khác biệt rõ rệt giữa nhóm ST, TCL 1 lần và ≥ 2 lần ($p = 0,002$). Trong một nghiên cứu khác của Asgari và cộng sự trên 140 cặp vợ chồng có tiền sử ST, TCL từ hai lần trở lên. Nhóm ST, TCL hai lần có tỷ lệ đa hình là 6,15%, trong khi đó nhóm ST, TCL ≥ 3 lần thì tỷ lệ này là 9,3%.¹⁰ Điều này gợi ý tính đa hình NST có tác động đến ST, TCL.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu cho thấy tỷ lệ đa hình NST ở các cặp vợ chồng có tiền sử ST, TCL là 10,8% và không có sự khác biệt theo giới. Đa hình hay gặp nhất là qh+, inv và hay xảy ra ở NST số 1 và 9. Tỷ lệ đa hình NST tăng lên theo số lần ST, TCL, gợi ý sự tăng nguy cơ ST, TCL có liên quan tới tính đa hình nhiễm sắc thể. Vì vậy, lời khuyên di truyền sinh sản là cần thiết trong các trường hợp có đa hình nhiễm sắc thể.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm nghiên cứu xin chân thành cảm ơn Bộ môn Y Sinh học - Di truyền, Trường Đại học Y Hà Nội, Trung tâm Tư vấn Di truyền, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội và sự giúp đỡ của các Anh/Chị Kỹ thuật viên đã hỗ trợ thực hiện nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kosyakova N, Grigorian A, Liehr T, et

al. Heteromorphic variants of chromosome 9. *Mol Cytogenet.* 2013; 6: 14. doi:10.1186/1755-8166-6-14

2. Hong Y, Zhou Y-W, Tao J, Wang S-X, Zhao X-M. Do polymorphic variants of chromosomes affect the outcome of in vitro fertilization and embryo transfer treatment? *Hum Reprod Oxf Engl.* 2011; 26(4): 933 - 940. doi:10.1093/humrep/deq333

3. Purandare H, Fernandes N, Deshmukh S, Chavan S. Heterochromatic Variations and Pregnancy Losses in Humans. *Int J Hum Genet.* 2011;11:167-175. doi:10.1080/09723757.2011.11886139

4. Gonçalves R, Santos W, Sarno M, Cerqueira B, Goncalves M, Costa O. Chromosomal abnormalities in couples with recurrent first trimester abortions. *Rev Bras Ginecol E Obstetrícia Rev Fed Bras Soc Ginecol E Obstetrícia.* 2014;36:113-117. doi:10.1590/S0100-72032014000300004

5. Goud TM, Al Harassi SM, Al Salmani KK, Al Busaidy SM, Rajab A. Cytogenetic studies in couples with recurrent miscarriage in the Sultanate of Oman. *Reprod Biomed Online.* 2009; 18(3): 424 - 429. doi:10.1016/S1472-6483(10)60104-6

6. Cho EH, Kang YS, Lee EH. Extra G-Positive Band at Chromosome 9Q13 As a Recurrent Heteromorphism in a Korean Population. *Fetal Pediatr Pathol.* 2011; 30(4): 257 - 259. doi:10.3109/15513815.2011.555811

7. Dundar M, Caglayan A, Saatci C, Batukan C, Basbug M, Ozkul Y. Can the classical euchromatic variants of 9q12/qh+ cause recurrent abortions? *Genet Couns Geneva Switz.* 2008; 19: 281 - 286.

8. Akbaş H, Isi H, Oral D, et al. Chromosome heteromorphisms are more frequent in couples with recurrent abortions. *Genet Mol Res GMR.* 2012; 11: 3847 - 3851. doi:10.4238/2012.

November.12.1

9. Pokale Y. Does a Heterochromatic Variant Affects the Human Reproductive Outcome?; 2015.

10. Asgari A, Ghahremani S, Saeedi

S, Kamrani E. The study of chromosomal abnormalities and heteromorphism in couples with 2 or 3 recurrent abortions in Shahid Beheshti Hospital of Hamedan. *Iran J Reprod Med.* 2013; 11(3): 201 - 208

Summary

CHROMOSOME HETEROMORPHISMS IN COUPLES WITH HISTORY OF MISCARRIAGES

The chromosomal heteromorphisms are easily overlooked during analysis because heteromorphisms variants or confusion with chromosomal mutations. This study is to determine the prevalence and types of chromosomal heteromorphisms in couples with history of miscarriage. The karyotype of 1157 couples with one or more miscarriages was detected using G-banding and analysis of chromosomal heteromorphism according to ISCN - 2016 standards. The heteromorphism in chromosome were detected in 249 cases out of 2314 individuals (10.8%) including qh+, inv, ps+, pstk+, qh-, cenh+, extraband, fra. The qh+ heteromorphism (67,2%) and inv(9) (17,2%) heteromorphism were higher than others. There was significant difference between one time of miscarriage group compared with two or more times of miscarriage group ($p < 0.05$). The ratio of chromosomal heteromorphism increases with number of miscarriages. These findings suggest that chromosomal analysis in couples with history of miscarriages should be recommended by all practioners at all levels and genetic counsellors should pay attention to chromosome heteromorphism of these couples.

Key words: Stillbirth, miscariages, chromosome heteromorphism.