

Chuyên đề Di truyền Y học: Chẩn đoán bằng Kỹ thuật Tế bào và Phân tử

Di truyền y học là lĩnh vực nghiên cứu, chẩn đoán, phòng ngừa và điều trị các bệnh di truyền ở người. Việc chẩn đoán sớm và chính xác các bệnh lý này có ý nghĩa vô cùng quan trọng, giúp các gia đình có sự chuẩn bị tốt nhất và các bác sĩ đưa ra phác đồ can thiệp phù hợp. Bài viết này tổng hợp các kỹ thuật chẩn đoán hiện đại ở hai cấp độ: tế bào và phân tử.

I. Chẩn đoán bằng kỹ thuật tế bào (Di truyền Tế bào học)

Đây là phương pháp nghiên cứu các đặc điểm của nhiễm sắc thể (NST) để phát hiện các bất thường về số lượng và cấu trúc, là nguyên nhân gây ra nhiều hội chứng di truyền nghiêm trọng.

1. Khái niệm và Mục đích

- **Khái niệm:** Là việc phân tích bộ NST của một cá thể về số lượng, kích thước, hình dạng và cấu trúc.
- **Mục đích:** Phát hiện các đột biến NST như lệch bội (thừa hoặc thiếu NST) hoặc các bất thường cấu trúc (mất đoạn, lặp đoạn, đảo đoạn, chuyển đoạn).

2. Kỹ thuật lập Nhiễm sắc thể đồ (Karyotyping)

Đây là kỹ thuật cốt lõi của di truyền tế bào học, cho phép hình ảnh hóa và sắp xếp bộ NST của một người.

Nguyên tắc: Nuôi cấy tế bào trong môi trường nhân tạo → Xử lý hóa chất (ví dụ: colchicine) để dừng quá trình phân bào ở kì giữa → Nhuộm bằng NST → Chụp ảnh dưới kính hiển vi và sắp xếp các cặp NST tương đồng thành một bộ NST hoàn chỉnh (gọi là NST đồ hay Karyotype).

Giải thích quy trình:

1. **Thu mẫu:** Mẫu tế bào có khả năng phân chia được thu thập, phổ biến là tế bào lympho trong máu ngoại vi, tế bào ối từ dịch ối, hoặc tế bào tua nhau thai.
2. **Nuôi cấy:** Tế bào được nuôi trong môi trường dinh dưỡng đặc biệt để kích thích chúng phân chia.
3. **Dừng phân bào:** Sau một thời gian nuôi cấy, hóa chất colchicine được thêm vào để phá vỡ thoi phân bào, làm cho các NST ngừng lại ở kỳ giữa - giai đoạn chúng co xoắn cực đại và có hình dạng rõ nét nhất.
4. **Xử lý và nhuộm:** Tế bào được xử lý bằng dung dịch nhược trương để làm chúng phồng lên, giúp các NST tách rời nhau. Sau đó, NST được cố định và nhuộm bằng các thuốc nhuộm đặc hiệu (phổ biến là Giemsa) để tạo ra các dải băng sáng tối đặc trưng (băng G).
5. **Phân tích:** Các NST được chụp ảnh và sắp xếp bằng phần mềm máy tính theo từng cặp tương đồng, dựa trên kích thước, vị trí tâm động và kiểu bắt màu của các dải băng.

Ví dụ minh họa:

• Ví dụ 1: Chẩn đoán Hội chứng Down (Trisomy 21)

Một phụ nữ mang thai 38 tuổi được chỉ định chọc ối do có nguy cơ cao. Kết quả lập NST đồ từ tế bào ối cho thấy bộ NST có 47 chiếc, với 3 chiếc NST số 21. Ký hiệu NST đồ là **47, XX, +21** (nếu thai nhi là nữ) hoặc **47, XY, +21** (nếu thai nhi là nam). Kết quả này khẳng định thai nhi mắc hội chứng Down, một hội chứng gây ra tình trạng chậm phát triển trí tuệ và thể chất cùng các dị tật bẩm sinh khác.

• Ví dụ 2: Chẩn đoán Hội chứng Turner

Một bé gái 15 tuổi có dấu hiệu chậm phát triển thể chất, không có kinh nguyệt. Xét nghiệm lập NST đồ từ tế bào máu cho thấy bộ NST chỉ có 45 chiếc, thiếu một NST giới tính X. Ký hiệu NST đồ là **45, X**. Đây là đặc điểm của hội chứng Turner, gây ra các biểu hiện như tâm vóc lùn, cổ ngắn, buồng trứng không phát triển và vô sinh.

• Ví dụ 3: Chẩn đoán Hội chứng Mèo kêu (Cri-du-chat)

Một trẻ sơ sinh có tiếng khóc aich aich như tiếng mèo kêu, đầu nhỏ và chậm phát triển. Phân tích NST đồ cho thấy bộ NST có 46 chiếc, nhưng một chiếc trong cặp NST số 5 bị mất một đoạn ở nhánh ngắn. Ký hiệu là **46, XY, 5p-**. Đây là đột biến cấu trúc NST gây ra hội chứng Mèo kêu.

II. Chẩn đoán bằng kỹ thuật phân tử (Di truyền Phân tử)

Các kỹ thuật này tập trung phân tích vật chất di truyền ở cấp độ phân tử (ADN, ARN) để phát hiện các đột biến gen mà phương pháp tế bào học không thể nhìn thấy.

1. Khái niệm và Mục đích

- **Khái niệm:** Sử dụng các công cụ sinh học phân tử để xác định trình tự, cấu trúc và sự biểu hiện của gen.
- **Mục đích:** Chẩn đoán các bệnh di truyền do đột biến gen (đột biến điểm, mất hoặc thêm cặp nucleotide), xác định người mang gen bệnh, tầm soát ung thư di truyền, và ứng dụng trong liệu pháp gen.

2. Các kỹ thuật phổ biến

a. Phản ứng chuỗi Polymerase (PCR - Polymerase Chain Reaction)

Nguyên tắc: Khuếch đại một đoạn ADN mục tiêu đặc hiệu lên hàng triệu đến hàng tỷ lần trong ống nghiệm, dựa trên hoạt động của enzyme Taq polymerase chịu nhiệt và các cặp mồi (primer) đặc hiệu.

Giải thích quy trình:

PCR là một chu trình lặp đi lặp lại gồm 3 bước nhiệt độ:

1. **Biến tính (Denaturation):** Ở 94-96°C, các liên kết hydro giữa hai mạch của phân tử ADN bị phá vỡ, tạo thành hai mạch đơn.
2. **Bắt cặp (Annealing):** Ở 50-65°C, các đoạn mồi (primer) đặc hiệu sẽ bắt cặp bổ sung vào vị trí khởi đầu của đoạn ADN mục tiêu trên cả hai mạch đơn.
3. **Kéo dài (Extension):** Ở 72°C, enzyme Taq polymerase tổng hợp mạch ADN mới từ các mồi, sử dụng các nucleotide tự do (dNTPs) trong môi trường.

Chu trình này được lặp lại 25-35 lần, tạo ra số lượng lớn bản sao của đoạn ADN mục tiêu.

Ví dụ minh họa:

• Ví dụ 1: Phát hiện tác nhân vi sinh vật

Để chẩn đoán một người có nhiễm virus HIV hay không, kỹ thuật RT-PCR (PCR phiên mã ngược) được sử dụng để phát hiện vật liệu di truyền (ARN) của virus trong máu bệnh nhân. Kỹ thuật này có độ nhạy rất cao, có thể phát hiện virus ngay cả khi số lượng rất thấp, trong giai đoạn "cửa sổ" mà các xét nghiệm kháng thể chưa dương tính.

• Ví dụ 2: Chẩn đoán bệnh loạn dưỡng cơ Duchenne

Bệnh này do đột biến mất đoạn lớn trên gen Dystrophin. Kỹ thuật Multiplex PCR sử dụng nhiều cặp mồi cùng lúc để khuếch đại các đoạn khác nhau của gen. Nếu một đoạn nào đó không được khuếch đại (không có sản phẩm PCR), điều đó chứng tỏ bệnh nhân bị mất đoạn gen tương ứng, từ đó chẩn đoán được bệnh.

b. Giải trình tự gen (Gene Sequencing)

Nguyên tắc: Xác định thứ tự chính xác của các nucleotide (A, T, C, G) trong một đoạn ADN hoặc toàn bộ hệ gen.

Giải thích:

Đây là kỹ thuật "tiêu chuẩn vàng" để xác định đột biến gen. Công nghệ giải trình tự thế hệ mới (Next-Generation Sequencing - NGS) cho phép phân tích hàng triệu đoạn ADN cùng lúc một cách nhanh chóng và hiệu quả, giúp sàng lọc nhiều gen hoặc toàn bộ hệ gen của một người để tìm ra các đột biến gây bệnh.

Ví dụ minh họa:

- **Ví dụ 1: Chẩn đoán bệnh thiếu máu hồng cầu hình liềm**

Bệnh do một đột biến điểm duy nhất trên gen β -globin (HBB), làm thay thế nucleotide A bằng T. Điều này dẫn đến sự thay đổi axit amin từ Glutamic thành Valine. Kỹ thuật giải trình tự gen HBB sẽ đọc chính xác trình tự nucleotide và xác nhận sự tồn tại của đột biến này, giúp chẩn đoán bệnh và tư vấn di truyền cho các cặp vợ chồng mang gen bệnh.

- **Ví dụ 2: Sàng lọc đột biến gen BRCA1/BRCA2 gây ung thư vú di truyền**

Phụ nữ có tiền sử gia đình mắc ung thư vú và buồng trứng có thể được chỉ định giải trình tự gen BRCA1 và BRCA2. Việc phát hiện các đột biến trên hai gen này cho thấy nguy cơ mắc bệnh rất cao, từ đó có các biện pháp theo dõi và phòng ngừa sớm như phẫu thuật cắt bỏ dự phòng.

III. Ứng dụng trong chẩn đoán trước sinh

Chẩn đoán trước sinh là việc sử dụng các kỹ thuật trên để phát hiện các dị tật hoặc bệnh lý di truyền của thai nhi ngay từ khi còn trong bụng mẹ. Điều này giúp gia đình có sự chuẩn bị và quyết định phù hợp.

1. Các phương pháp lấy mẫu xét nghiệm

Phương pháp	Thời điểm thực hiện	Mẫu thu được	Rủi ro cho thai nhi	Kỹ thuật phân tích
Sinh thiết tua nhau thai (CVS)	Tuần 11-14	Mô tua nhau thai (có cùng nguồn gốc di truyền với thai nhi)	Cao (khoảng 1/100)	Lập NST đồ, PCR, giải trình tự gen
Chọc dò dịch ối	Tuần 15-20	Tế bào của thai nhi bong ra trong dịch ối	Thấp hơn CVS (khoảng 1/300 - 1/500)	Lập NST đồ, PCR, giải trình tự gen
Sàng lọc không xâm lấn (NIPT)	Từ tuần thứ 10	ADN tự do của thai nhi (cfDNA) trong máu mẹ	An toàn tuyệt đối (chỉ lấy máu mẹ)	Giải trình tự ADN (chủ yếu sàng lọc lệch bội NST 13, 18, 21)

Lưu ý: NIPT là một xét nghiệm sàng lọc, nếu kết quả có nguy cơ cao, vẫn cần xác nhận lại bằng các phương pháp chẩn đoán xâm lấn như chọc ối hoặc CVS.

2. Quy trình chẩn đoán trước sinh tổng quát

1. **Tư vấn di truyền:** Các cặp vợ chồng, đặc biệt là những người có nguy cơ cao (lớn tuổi, tiền sử gia đình có bệnh di truyền), được tư vấn về các lựa chọn xét nghiệm.
2. **Sàng lọc:** Thai phụ được siêu âm đo độ mờ da gáy và làm các xét nghiệm sinh hóa (Double test, Triple test) hoặc NIPT để đánh giá nguy cơ.
3. **Chỉ định chẩn đoán:** Nếu kết quả sàng lọc cho thấy nguy cơ cao, bác sĩ sẽ chỉ định thực hiện các thủ thuật xâm lấn (chọc ối, CVS) để lấy mẫu chẩn đoán xác định.
4. **Phân tích mẫu:** Mẫu tế bào thai nhi được gửi đến phòng xét nghiệm để tiến hành lập NST đồ hoặc phân tích ADN.
5. **Trả kết quả và tư vấn sau chẩn đoán:** Dựa trên kết quả phân tích, bác sĩ sẽ thông báo tình trạng của thai nhi và tư vấn cho gia đình về các hướng xử trí tiếp theo.