

CELL-FREE DNA IN SPENT EMBRYO CULTURE MEDIUM AND ITS APPLICATION IN NON-INVASIVE PREIMPLANTATION GENETIC TESTING: A REVIEW

Ho Thi Ha¹, Ngo Thi Hai Yen¹, Kieu Manh Hung¹, Chu Thi Ly¹, Do Thi Minh Tam²,
Dang Thu Hang*¹

¹ National Hospital of Obstetrics and Gynecology

² Hanoi Medical University

Received 13 May 2026

Accepted 26 May 2026

Abstract: Objective: To elucidate the factors that influence the concentration and quality of cellfree DNA (cfDNA) in spent embryo culture medium (SECM) and to assess the potential application of cfDNA in noninvasive preimplantation genetic testing (niPGT). **Methods:** A narrative review was conducted of studies on cfDNA in SECM and niPGT retrieved from major biomedical databases, selecting articles that described the origin, characteristics and determinants of cfDNA during embryo culture, as well as sample collection and processing procedures. **Results:** Multiple studies have reported moderate to high concordance between niPGT results based on cfDNA in SECM and those from trophoctoderm biopsy; however, reliability and reproducibility remain limited, with wide variation in concordance rates across studies. Key influencing factors include culture conditions and duration, type and volume of culture medium, timing and method of sample collection, the extent of maternal or laboratory DNA contamination, and the protocols used for cfDNA processing, amplification and sequencing. **Conclusion:** Identifying and controlling these factors is essential for standardizing protocols for embryo culture, SECM collection and analysis, thereby improving the accuracy of niPGT and facilitating its broader clinical implementation in assisted reproductive practice.

Keywords: cfDNA, SECM, culture medium, preimplantation genetic testing, niPGT.

* Corresponding author:

E-mail address: dangthuhang57@gmail.com

<https://doi.org/10.56086/jcvb.v6i2.263>

TỔNG QUAN VỀ DNA TỰ DO TRONG MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY PHÔI VÀ ỨNG DỤNG TRONG SÀNG LỌC DI TRUYỀN TIỀN LÀM TỔ KHÔNG XÂM LẤN

Hồ Thị Hà¹, Ngô Thị Hải Yến¹, Kiều Mạnh Hùng¹, Chu Thị Ly¹,
Đỗ Thị Minh Tâm², Đặng Thu Hằng^{1*}

¹ Bệnh viện Phụ sản Trung Ương

² Trường Đại học Y Hà Nội

Nhận ngày 13 tháng 05 năm 2026

Chấp nhận đăng ngày 26 tháng 05 năm 2026

Tóm tắt: Mục tiêu: Tổng hợp các yếu tố ảnh hưởng đến nồng độ và chất lượng DNA tự do (cfDNA) trong môi trường nuôi cấy phôi đã qua sử dụng (SECM) và đánh giá tiềm năng ứng dụng cfDNA trong sàng lọc di truyền tiền làm tổ không xâm lấn (niPGT). **Phương pháp:** Tổng quan tường thuật các nghiên cứu về cfDNA trong SECM và niPGT được tìm kiếm trên các cơ sở dữ liệu y sinh học lớn, tập trung vào nguồn gốc, đặc điểm và các yếu tố ảnh hưởng đến cfDNA trong quá trình nuôi cấy, thu thập và xử lý mẫu. **Kết quả:** Nhiều nghiên cứu ghi nhận mức độ tương đồng từ trung bình đến cao giữa niPGT dựa trên cfDNA trong SECM và sinh thiết TE, tuy nhiên độ tin cậy và khả năng lặp lại vẫn còn biến thiên đáng kể. Các yếu tố ảnh hưởng chính gồm điều kiện và thời gian nuôi cấy, thể tích môi trường, thời điểm và cách thức thu mẫu, mức độ nhiễm DNA từ mẹ hoặc phòng xét nghiệm và quy trình xử lý, khuếch đại, giải trình tự cfDNA. **Kết luận:** Nhận diện và kiểm soát các yếu tố này là cơ sở để chuẩn hóa quy trình nuôi cấy, thu thập và phân tích SECM, từ đó nâng cao độ chính xác của niPGT và thúc đẩy ứng dụng kỹ thuật này trong hỗ trợ sinh sản.

Từ khóa: cfDNA, SECM, môi trường nuôi cấy, sàng lọc di truyền tiền làm tổ, niPGT

1. Đặt vấn đề

Sàng lọc di truyền tiền làm tổ (PGT) đã trở thành một công cụ quan trọng trong hỗ trợ sinh sản nhằm phát hiện và loại trừ các phôi mang bất thường nhiễm sắc thể trước khi chuyển phôi. Tuy nhiên, các kỹ thuật PGT kinh điển dựa trên sinh thiết tế bào nuôi (trophectoderm – TE) vẫn mang tính xâm lấn, đòi hỏi kỹ thuật cao, có nguy cơ ảnh hưởng đến phôi và làm tăng chi phí cũng như thời gian điều trị. Trong bối cảnh đó, sự phát hiện DNA tự do (cell-free DNA – cfDNA) của phôi trong môi trường nuôi

cấy đã qua sử dụng (spent embryo culture medium – SECM) mở ra một hướng tiếp cận không xâm lấn đầy hứa hẹn cho sàng lọc di truyền tiền làm tổ.

Các nghiên cứu gần đây cho thấy cfDNA trong SECM có thể phản ánh tình trạng bộ nhiễm sắc thể của phôi với mức độ tương đồng nhất định so với kết quả sinh thiết TE, gợi ý tiềm năng ứng dụng của sàng lọc di truyền tiền làm tổ không xâm lấn (niPGT). Tuy vậy, độ tin cậy và khả năng tái lập của niPGT giữa các nghiên cứu còn rất khác

nhau, một phần do sự đa dạng trong quy trình nuôi cấy, điều kiện phòng lab, thời điểm và cách thức thu mẫu, cũng như phương pháp xử lý và phân tích cfDNA. Việc hiểu rõ các yếu tố ảnh hưởng đến nồng độ và chất lượng cfDNA trong SECM là điều kiện tiên quyết để chuẩn hóa quy trình và nâng cao giá trị chẩn đoán của niPGT.

Xuất phát từ những vấn đề trên, bài tổng quan này được thực hiện với mục tiêu tổng hợp và phân tích các bằng chứng hiện có về nguồn gốc, đặc điểm và những yếu tố có thể tác động đến cfDNA trong SECM, từ đó đề xuất những định hướng nhằm chuẩn hóa quy trình nuôi cấy, thu thập và xử lý mẫu cho các ứng dụng niPGT trong thực hành lâm sàng.

2. Phương pháp tổng quan

2.1 Thiết kế tổng quan

Nghiên cứu được thực hiện theo phương pháp tổng quan tường thuật.

2.2. Nguồn dữ liệu và chiến lược tìm kiếm

Câu hỏi nghiên cứu

Tổng quan được xây dựng dựa trên các câu hỏi: (1) cfDNA trong SECM có những đặc điểm gì về nguồn gốc, nồng độ và chất lượng? (2) Những yếu tố nào trong quá trình nuôi cấy, thu thập và xử lý mẫu có thể ảnh hưởng đến cfDNA trong SECM? (3) Bằng chứng hiện có cho thấy cfDNA trong SECM hỗ trợ niPGT với độ tin cậy đến mức nào trong thực hành lâm sàng?

Chiến lược tìm kiếm

Các tài liệu được tìm kiếm từ các cơ sở dữ liệu khoa học y sinh gồm PubMed/MEDLINE, Scopus, Web of Science và Google Scholar, đồng thời tra cứu thêm

từ danh mục tài liệu tham khảo của các bài báo liên quan. Chiến lược tìm kiếm sử dụng các từ khóa và cụm từ kết hợp bằng toán tử Boole, bao gồm: “cell-free DNA”, “cfDNA”, “spent embryo culture medium”, “SECM”, “blastocoel fluid”, “preimplantation genetic testing”, “PGT”, “non-invasive PGT”, “niPGT”, “aneuploidy” và các từ đồng nghĩa. Từ khóa được tìm kiếm bằng tiếng Anh, giới hạn trên người.

2.3. Khoảng thời gian nghiên cứu

Các tài liệu được lựa chọn trong khoảng thời gian từ năm 2015 đến năm 2026, nhằm tập trung vào giai đoạn có nhiều nghiên cứu về cfDNA trong SECM và niPGT với các kỹ thuật giải trình tự thế hệ mới được cập nhật.

Tiêu chí lựa chọn và loại trừ

Các nghiên cứu được đưa vào tổng quan khi đáp ứng các tiêu chí: (1) đối tượng là phôi người nuôi cấy in vitro; (2) có thu thập và phân tích cfDNA trong SECM; (3) báo cáo ít nhất một trong các nội dung: đặc điểm, nguồn gốc hoặc các yếu tố ảnh hưởng đến cfDNA trong SECM, hoặc so sánh cfDNA với PGT xâm lấn; (4) Loại trừ các nghiên cứu trên động vật, báo cáo ca, thư tòa soạn, ý kiến chuyên gia, bài không có toàn văn, và các nghiên cứu không tách riêng được dữ liệu cfDNA từ SECM.

2.4. Quy trình sàng lọc và lựa chọn nghiên cứu

Quy trình sàng lọc được tiến hành qua ba bước: (1) loại trừ trùng lặp từ các cơ sở dữ liệu; (2) sàng lọc tiêu đề và tóm tắt; (3) đọc toàn văn để lựa chọn các nghiên cứu đáp ứng tiêu chí đưa vào. Sơ đồ lựa chọn nghiên cứu được trình bày theo hướng dẫn PRISMA,

thể hiện số lượng bài báo ở từng bước tìm kiếm, loại trừ và đưa vào tổng hợp.

Trong giai đoạn từ năm 2015 đến 2026, quá trình tìm kiếm trên các cơ sở dữ liệu điện tử đã ghi nhận tổng cộng 256 tài liệu có tiềm năng liên quan, bao gồm PubMed/MEDLINE, Scopus và Google Scholar. Sau khi loại trừ trùng lặp, sàng lọc tiêu đề – tóm tắt và đánh giá toàn văn theo tiêu chí lựa chọn, 27 nghiên cứu đáp ứng đầy đủ tiêu chí được đưa vào tổng quan. Danh mục một số nghiên cứu chính, mang tính đại diện được trình bày trong phần Tài liệu tham khảo.

2.5. Phương pháp xử lý và tổng hợp dữ liệu

Toàn bộ tài liệu thu thập được quản lý bằng phần mềm quản lý tài liệu tham khảo Zotero. Các dữ liệu chính được trích xuất và nhập vào bảng Excel chuẩn hóa, bao gồm: đặc điểm dân số nghiên cứu, giai đoạn phôi và điều kiện nuôi cấy, đặc điểm SECM và quy trình thu mẫu, phương pháp tách chiết và phân tích cfDNA, cùng các chỉ số về nồng độ, chất lượng cfDNA và kết quả niPGT. Tổng hợp kết quả được thực hiện theo phương pháp tổng quan tường thuật, tập trung mô tả và so sánh các yếu tố ảnh hưởng đến cfDNA trong SECM, nêu bật những điểm nhất quán và khác biệt giữa các nghiên cứu mà không tiến hành phân tích gộp định lượng.

2.6. Đạo đức trong nghiên cứu

Toàn bộ tài liệu sử dụng trong nghiên cứu này đều là các nguồn đã công bố chính thức trên những tạp chí và ấn phẩm khoa học uy tín trong và ngoài nước. Dữ liệu được trích xuất một cách đầy đủ, trung thực và chính xác, chỉ phục vụ mục đích nghiên

cứu khoa học, không dùng cho mục đích thương mại hay tuyên truyền.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Đặc điểm và nguồn gốc cfDNA trong SECM

DNA tự do (cell-free DNA, cfDNA) là các đoạn DNA mạch đôi ngắn tồn tại ngoài tế bào, được Mandel và Métais phát hiện lần đầu trong huyết tương người vào năm 1948. cfDNA thường có chiều dài tương ứng khoảng một đơn vị nucleosome (150–200 bp). Sự hiện diện của DNA phôi phân mảnh trong môi trường nuôi cấy phôi đã qua sử dụng (SECM) hiện đã được xác nhận, với kích thước dao động khá rộng từ khoảng 100 bp đến trên 1000 bp [1]. Mặc dù nồng độ cfDNA trong SECM thường thấp, vật liệu này vẫn đủ để thực hiện khuếch đại toàn hệ gen và phân tích di truyền khi áp dụng quy trình tách chiết và khuếch đại phù hợp [2] based on embryo biopsy, has significant limitations. Cell-free DNA (cf-DNA).

cfDNA được cho là chủ yếu giải phóng từ phôi bào thông qua quá trình chết theo chương trình và các cơ chế sửa sai trong quá trình phát triển phôi, làm các mảnh DNA được phóng thích vào môi trường nuôi cấy và dịch khoang phôi, bao gồm cả từ tế bào lá nuôi. Tuy nhiên, một số nghiên cứu gần đây cho thấy có thể tồn tại thêm các cơ chế giải phóng cfDNA mang tính chủ động, dù vẫn cần được làm rõ thêm.

Về nguồn gốc, cfDNA trong SECM có thể xuất phát từ ba nguồn chính: (1) tế bào phôi, bao gồm cả khối tế bào bên trong (inner cell mass – ICM) và lá nuôi (trophectoderm – TE), (2) DNA của mẹ từ

tế bào nang hoặc thể cực, và (3) một lượng nhỏ DNA ngoại sinh từ các thành phần bổ sung trong môi trường nuôi cấy, như albumin huyết thanh người. Bằng phân tích methylome toàn hệ gen, Chen và cộng sự (2021) đã chứng minh cfDNA trong SECM có nguồn gốc từ cả ICM và TE. Trong 61 mẫu SECM không nhiễm DNA mẹ thu thập ở ngày 6, có 29,5% mẫu mang đặc điểm methyl hóa tương đồng với TE và 70,5% tương đồng với ICM, đồng thời không ghi nhận sự khác biệt về cfDNA giữa phôi lệch bội và phôi nguyên bội [3]. Những bằng chứng này củng cố nhận định rằng cfDNA trong SECM phản ánh phôi hợp cả thành phần phôi và không phôi, là yếu tố then chốt cần được tính đến khi xây dựng và diễn giải các quy trình.

3.2. Các yếu tố kỹ thuật ảnh hưởng đến nồng độ và chất lượng cfDNA

Việc thu nhận được nguồn cfDNA đủ nồng độ và tinh khiết là điều kiện tiên quyết để khuếch đại thành công và đảm bảo độ chính xác của niPGT. Do đó, các yếu tố kỹ thuật trong nuôi cấy phôi và xử lý SECM, bao gồm thể tích giọt nuôi, thời điểm thu mẫu, chất lượng và tình trạng phôi, cũng như mức độ nhiễm DNA ngoại lai, có ảnh hưởng quyết định đến chất lượng tín hiệu cfDNA thu được.

3.2.1. Thể tích giọt nuôi cấy và mô hình nuôi phôi

Các nghiên cứu cho thấy thể tích giọt nuôi cấy ảnh hưởng trực tiếp đến nồng độ cfDNA trong SECM: thể tích nhỏ giúp cô đặc cfDNA, trong khi thể tích lớn làm loãng tín hiệu, gây khó khăn cho khuếch đại và phát hiện lệch bội. Nghiên cứu của

Minasi trên 1128 hợp tử người cho thấy nuôi phôi trong giọt nhỏ (15 μ L hoặc 7 μ L) không làm giảm chất lượng phôi so với giọt lớn 35 μ L, thậm chí tỷ lệ phôi nang còn cao hơn ở giọt 7 μ L, được cho là nhờ tăng nồng độ các yếu tố cận tiết của phôi [4]. Một nghiên cứu đa trung tâm khác cũng ghi nhận nuôi phôi đơn giọt 10 μ L từ ngày 4 - 6 không ảnh hưởng đến tỷ lệ phôi nang, tỷ lệ nguyên bội hay kết quả thai kỳ [5] the concordance rates that cfDNA results have with the full blastocyst or a trophectoderm (TE. Nhiều báo cáo cho thấy tỷ lệ khuếch đại thành công cfDNA dao động khoảng 85–97% khi sử dụng giọt nuôi 10–30 μ L, trong đó hiệu quả tốt nhất thường ghi nhận ở các mô hình giọt nhỏ 10–15 μ L. Dữ liệu trong nước cũng ghi nhận nuôi phôi trong giọt 15 μ L cho nồng độ cfDNA trung bình trên 15 ng/ μ L và tỷ lệ khuếch đại trên 90% [6]. Nhìn chung, tối ưu hóa thể tích giọt ở mức nhỏ nhưng vẫn đảm bảo điều kiện nuôi phôi ổn định được xem là chiến lược quan trọng để tăng lượng cfDNA có nguồn gốc từ phôi mà không gây ảnh hưởng bất lợi đến sự phát triển của phôi.

3.2.2. Thời điểm thu mẫu SECM và thời gian nuôi cấy

cfDNA được phát hiện trong SECM ngay từ giai đoạn hợp tử, và tăng dần theo quá trình phát triển của phôi. Nhiều nghiên cứu cho thấy việc thu SECM ở giai đoạn phôi nang ngày 5–6 cho hiệu quả tối ưu hơn so với giai đoạn ngày 3–4, với nồng độ cfDNA cao hơn, tỷ lệ khuếch đại toàn hệ gen thành công lớn hơn và mức độ tương đồng cao hơn với kết quả sinh thiết lá nuôi (TE).

Ho và cộng sự (2018) ghi nhận tỷ lệ

mẫu đủ chất lượng để giải trình tự tăng từ 39% ở ngày 3 lên 80,4% ở ngày 5, đồng thời mức độ tương đồng với kết quả sinh thiết TE về bộ nhiễm sắc thể và giới tính cũng cao hơn rõ rệt ở nhóm SECM ngày 5. Những kết quả này cho thấy mặc dù cfDNA hiện diện ở cả hai thời điểm, SECM thu ở giai đoạn phôi nang mang lại giá trị chẩn đoán đáng tin cậy hơn [7].

Ngoài thời điểm thu mẫu, thời gian nuôi cấy trước khi thu SECM cũng ảnh hưởng đến chất lượng cfDNA. Hiện nay, khoảng thời gian nuôi cấy 24–48 giờ được xem là tối ưu để cân bằng giữa việc tích lũy đủ cfDNA và hạn chế hiện tượng phân hủy DNA. Thời gian ủ quá ngắn (<24 giờ) có thể không đủ để giải phóng lượng DNA nhân cần thiết, trong khi quá dài (>48–72 giờ) làm giảm tính toàn vẹn của cfDNA do quá trình phân hủy tự nhiên [8] 120 embryos of day 3 were transferred to single-drop culture until the blastocyst stage. The single-drop culture drops were prepared using microdrops of 30 μ L. At the blastocyst stage, spent media from all single-drop embryos were utilized for extracting cell-free genomic DNA to standardize the protocol. The blastocyst rate indicates no significant difference between the two culture methods, suggesting that single-drop culture is suitable for the process. Additionally, the extracted spent media yielded sufficient quantities of cf-DNA, supporting its potential use for PGT ($p < 0.05$).

3.2.3. Chất lượng phôi và tình trạng tươi/đông lạnh

Chất lượng phôi cũng ảnh hưởng đáng kể đến nồng độ và đặc điểm cfDNA trong SECM. Phôi chất lượng tốt thường giải

phóng lượng cfDNA vừa đủ, ít phân mảnh, thuận lợi cho khuếch đại và phân tích, trong khi phôi kém chất lượng hoặc thoái hóa có thể tạo nhiều cfDNA hơn do tăng hoại tử, nhưng DNA thường phân mảnh mạnh, làm giảm hiệu quả phân tích. Nghiên cứu của tác giả Hồ Giang Nam ghi nhận nồng độ cfDNA thu được cao nhất ở nhóm phôi nang chất lượng trung bình [6].

Đối với phôi tươi và phôi rã đông, một số giả thuyết cho rằng quá trình trữ – rã làm tăng apoptosis và do đó tăng lượng cfDNA, nhưng dữ liệu hiện có cho thấy phôi rã đông vẫn cho tỷ lệ khuếch đại cfDNA cao và giá trị chẩn đoán tương đương nếu quy trình nuôi cấy và thu mẫu được kiểm soát tốt. Điều này mở ra khả năng ứng dụng niPGT dựa trên SECM không chỉ trong các chu kỳ phôi tươi mà cả ở chu kỳ chuyển phôi trữ, nhưng vẫn cần thêm các nghiên cứu lớn để khẳng định [9].

3.2.4. Nhiễm DNA từ mẹ và môi trường nuôi cấy

Một thách thức lớn của niPGT dựa trên SECM là tình trạng nhiễm DNA không thuộc về phôi, chủ yếu từ DNA mẹ và DNA ngoại sinh từ môi trường nuôi cấy. Phân tích SNP và methylome của Chen và cộng sự cho thấy DNA mẹ chủ yếu có nguồn gốc từ tế bào hạt quanh noãn ($R = 0,93$), trong khi đóng góp từ thể cực ở các mẫu thu ngày 5–6 là rất thấp. Do đó, việc kéo dài thời gian nuôi đến giai đoạn phôi nang và thay môi trường sau khi thụ tinh được xem là biện pháp hữu hiệu để giảm nhiễm DNA mẹ [3].

Ngoài ra, môi trường nuôi cấy không tiếp xúc với phôi vẫn có thể chứa một

lượng nhỏ DNA ngoại sinh, đặc biệt khi bổ sung albumin huyết thanh người (HSA). Nghiên cứu của Hammond và cộng sự ghi nhận mức nhiễm DNA tăng nhẹ theo nồng độ HSA, có thể liên quan đến khả năng gắn DNA của protein này [10].

Do cfDNA trong SECM là hỗn hợp giữa DNA phôi và không phôi, việc giảm tối đa tạp nhiễm và/hoặc áp dụng các chiến lược tin sinh học (như lọc methylome của DNA mẹ) là bước then chốt để nâng cao độ đặc hiệu và giá trị chẩn đoán của niPGT [11].

3.3. Độ tin cậy của niPGT dựa trên cfDNA trong SECM

Các nghiên cứu về niPGT dựa trên cfDNA trong SECM cho thấy hiệu quả kỹ thuật và mức độ tương hợp với PGT-A còn dao động đáng kể, chủ yếu do sự khác biệt về quy trình labo và thiết kế nghiên cứu. Bảng 1 tóm tắt một số chỉ số quan trọng, bao gồm tỷ lệ khuếch đại thành công, tỉ lệ mẫu đủ điều kiện phân tích và mức độ tương hợp giữa cfDNA SECM và sinh thiết TE.

Bảng 1. Kết quả về hiệu suất kỹ thuật và độ tương hợp với PGT-A

Nghiên cứu	Cỡ mẫu	Điều kiện nuôi cấy & thu SECM	Kỹ thuật cfDNA	Tỉ lệ khuếch đại thành công cfDNA (%)	Tương hợp với TE về lệch bội (%)	Tương hợp giới tính (%)
Ho 2018 [7]	41 phôi hiến tặng	Giọt 5 µL, ngày 3 và 5	WGA + NGS	Ngày 3: 39% Ngày 5: 80,4%	Ngày 3: 56,3%; Ngày 5: 65%	Ngày 3: 82,3%; Ngày 5: 70%
Rubio 2020 [12]	1301 phôi nang	Giọt 10 µL, ngày 5–6	WGA + NGS (niPGTA)	90 - 95%	78,2% (72,5 - 86,3% giữa các trung tâm)	–
Hồ Giang Nam 2024 [6]	98 phôi	Giọt 15 µL, ngày 5	WGA + NGS	82 – 90 %	73,1%	80,6%
Nguyen 2025 [13]	77 phôi nang	Giọt 20 µL, ngày 5–7	WGA + NGS (niPGTA)	82%	91,66%	–

3.3.1. Tỉ lệ khuếch đại thành công và chất lượng dữ liệu

Các nghiên cứu về niPGT-A từ cfDNA trong SECM ghi nhận tỉ lệ khuếch đại toàn hệ gen (WGA) và thu được kết quả NGS dao động rộng, thường trong khoảng 80–95%, phụ thuộc vào thể tích giọt nuôi, thời

điểm thu SECM và quy trình xử lý mẫu [2] based on embryo biopsy, has significant limitations. Cell-free DNA (cf-DNA. Trong một thử nghiệm lâm sàng tại Việt Nam, tỷ lệ khuếch đại thành công đạt khoảng 82–90% khi tối ưu hóa thể tích giọt và thời gian nuôi cấy, cho thấy SECM có thể cung cấp

vật liệu di truyền đủ cho phân tích toàn bộ bộ gen trong phần lớn trường hợp [6].

3.3.2. Mức độ tương đồng với PGT-A từ sinh thiết TE

Mặc dù nhiều nghiên cứu ghi nhận mức tương đồng từ trung bình đến cao giữa niPGT dựa trên cfDNA trong SECM và PGT-A xâm lấn, kết quả vẫn còn dao động đáng kể giữa các báo cáo.

Nghiên cứu đa trung tâm của Carmen Rubio trên 1301 phôi nang ghi nhận mức độ tương đồng giữa cfDNA trong SECM và sinh thiết TE đạt 78,2%, dao động từ 72,5–86,3% giữa các trung tâm. Khi các quy trình labo được kiểm soát chặt chẽ nhằm hạn chế nhiễm DNA ngoại lai, tỷ lệ tương đồng có thể vượt 86%, với độ nhạy và độ đặc hiệu trong phát hiện lệch bội tương đương với sinh thiết TE [12]. Tại Việt Nam, Hồ Giang Nam (2024) đã báo cáo tỷ lệ phù hợp giữa kết quả niPGT trên dịch nuôi cấy và sinh thiết TE ở 98 phôi là 73,1%, trong đó mức độ phù hợp hoàn toàn chiếm 10,2%. Mức độ tương đồng về nhiễm sắc thể giới tính đạt 80,6%, tuy nhiên vẫn ghi nhận một số trường hợp sai khác trong xác định NST giới tính XX/XY [6]. Nghiên cứu gần đây của Ha T T Nguyen và cộng sự (2025) ghi nhận tỉ lệ tương hợp tổng thể giữa niPGTA và PGTA là 81,8%, tương hợp hoàn toàn 63,6% (21/33), tương hợp lệch bội 91,66% và nguyên bội 76,19% [13].

3.3.3. Ý nghĩa lâm sàng: khả năng thay thế hay bổ trợ PGT-A

Các tổng quan gần đây nhất đều thống nhất rằng, dù cfDNA trong SECM cho thấy tiềm năng trong đánh giá bộ nhiễm sắc thể của phôi, độ tin cậy hiện nay vẫn chưa

đủ để niPGT-A có thể thay thế hoàn toàn PGT-A dựa trên sinh thiết TE [13]. Sự biến thiên lớn về tỉ lệ mẫu “có thông tin”, độ nhạy, đặc hiệu giữa các nghiên cứu, cũng như ảnh hưởng của nhiễm DNA mẹ và điều kiện labo, khiến kết quả niPGT hiện phù hợp hơn với vai trò công cụ bổ trợ: hỗ trợ phân tầng nguy cơ, làm dự phòng khi mẫu TE không phân tích được hoặc dùng trong các nghiên cứu không chọn lọc. Để niPGT có thể tiến tới ứng dụng lâm sàng rộng rãi, cần thêm các nghiên cứu tiền cứu, không chọn lọc với cỡ mẫu lớn, song song với tối ưu hóa quy trình nuôi cấy, thu mẫu và các thuật toán loại bỏ DNA tạp nhiễm.

4. Bàn luận

Trong những năm gần đây, nhiều nghiên cứu đã ghi nhận những kết quả khả quan đối với xét nghiệm di truyền tiền làm tổ không xâm lấn (niPGT). Tuy nhiên, mức độ tương đồng giữa niPGT và PGT-A xâm lấn vẫn dao động khá rộng và chưa đồng nhất giữa các nghiên cứu. Hạn chế lớn nhất hiện nay của niPGT là chưa có một quy trình chuẩn hóa thống nhất nhằm thu nhận đủ lượng cfDNA có chất lượng tốt và giảm thiểu tối đa các yếu tố gây nhiễu. Sự khác biệt về điều kiện nuôi cấy phôi, thể tích giọt nuôi, thể tích mẫu thu nhận và quy trình xử lý mẫu đều có thể ảnh hưởng đến nồng độ cfDNA cũng như kết quả phân tích di truyền.

Phần lớn các nghiên cứu cho thấy sử dụng giọt nuôi cấy thể tích nhỏ (<15 μ L) giúp tăng nồng độ cfDNA thu được mà không ảnh hưởng đến sự phát triển của phôi. Đồng thời, SECM thường được khuyến cáo thu ở giai đoạn phôi nang ngày 5; với các phôi phát triển chậm, có thể thu vào ngày

6–7 mà vẫn duy trì chất lượng xét nghiệm. Để hạn chế nhiễm DNA có nguồn gốc từ mẹ, nhiều điều chỉnh trong quy trình IVF đã được áp dụng, bao gồm loại bỏ triệt để tế bào nang trước và sau ICSI, nuôi nhóm ở giai đoạn phân cắt, sau đó rửa và nuôi đơn phôi đến giai đoạn phôi nang trước khi thu dịch nuôi cấy vào ngày 5–6. Các biện pháp này giúp giảm đáng kể sự hiện diện của DNA ngoại lai trong SECM. Ngoài ra, chất lượng phôi cũng ảnh hưởng đáng kể đến kết quả niPGT, trong đó các phôi chất lượng tốt thường cung cấp dữ liệu di truyền ổn định và chính xác hơn.

Bên cạnh đó, vẫn còn nhiều khoảng trống cần được làm rõ, bao gồm thiếu các quy trình chuẩn hóa đa trung tâm, thiếu các nghiên cứu tiền cứu với cỡ mẫu lớn liên hệ trực tiếp kết quả niPGT với kết cục thai kỳ và trẻ sinh sống, cũng như hạn chế của các thuật toán hiện nay trong việc phân biệt DNA phôi với DNA ngoại lai. Trong tương lai, các nghiên cứu cần tập trung tối ưu hóa toàn bộ quy trình kỹ thuật từ nuôi cấy, thu mẫu, xử lý, giải trình tự đến phân tích dữ liệu, đồng thời tích hợp các phương pháp hiệu chỉnh nhiễm bản dựa trên methylome hoặc SNP nhằm nâng cao độ tin cậy của niPGT và xác định rõ vai trò của kỹ thuật này trong thực hành lâm sàng.

5. Kết luận

Sự hiện diện của cfDNA trong môi trường nuôi cấy phôi đã mở ra tiềm năng phát triển xét nghiệm di truyền tiền làm tổ không xâm lấn (niPGT) với nhiều ưu điểm như không xâm lấn, không gây tổn thương phôi và không đòi hỏi kỹ thuật sinh thiết phức tạp. Tuy nhiên độ tương đồng của xét nghiệm này với các xét

nghiệm di truyền tiền làm tổ (PGT) vẫn đang có sự khác nhau giữa các nghiên cứu. Nồng độ và chất lượng cfDNA là yếu tố quan trọng đến độ tin cậy của xét nghiệm. Mặc dù vẫn còn nhiều thách thức kỹ thuật, việc chuẩn hóa quy trình nuôi cấy và thu nhận mẫu, đặc biệt trong nuôi đơn giọt, được xem là yếu tố then chốt để nâng cao hiệu quả chẩn đoán và thúc đẩy ứng dụng niPGT trong tương lai.

Tài liệu tham khảo

- [1] Vera-Rodriguez M, Diez-Juan A, Jimenez-Almazan J, Martinez S, Navarro R, Peinado V, et al. Origin and composition of cell-free DNA in spent medium from human embryo culture during preimplantation development. *Human Reproduction*. 2018 Apr 1;33(4):745–56. doi:10.1093/humrep/dey028
- [2] Sialakouma A, Karakasiliotis I, Ntala V, Nikolettos N, Asimakopoulos B. Embryonic Cell-free DNA in Spent Culture Medium: A Non-invasive Tool for Aneuploidy Screening of the Corresponding Embryos. *In Vivo*. 2021;35(6):3449–57. doi:10.21873/invivo.12645 PubMed PMID: 34697181; PubMed Central PMCID: PMC8627731.
- [3] Chen Y, Gao Y, Jia J, Chang L, Liu P, Qiao J, et al. DNA methylome reveals cellular origin of cell-free DNA in spent medium of human preimplantation embryos. *J Clin Invest*. 2021 Jun 15;131(12). doi:10.1172/JCI146051 PubMed PMID: 0.
- [4] Minasi MG, Fabozzi G, Casciani V, Lobascio AM, Colasante A, Scarselli F, et al. Improved blastocyst formation with reduced culture volume: comparison of three different culture conditions on 1128 sibling human zygotes. *J Assist Reprod Genet*. 2015 Feb;32(2):215–20.

- doi:10.1007/s10815-014-0399-5
- [5] Rubio LLuesa C, Navarro-Sánchez L, Ardestani G, Barroso G, Bisioli C, Boynukalin K, et al. P-533 Impact on clinical outcomes of day-6 extended culture and reduced culture media volume applied to non-invasive PGT-A. *Human Reproduction*. 2024 Jul 3;39(Supplement_1):deae108.873. doi:10.1093/humrep/deae108.873
- [6] Hồ GN, Trịnh TS, Dương ĐC, Lê H, Nguyễn TLH, Nguyễn TH, et al. Xác định đặc điểm bất thường nhiễm sắc thể phôi nang trên mẫu Cf-DNA của dịch môi trường nuôi cấy và tế bào lá nuôi. *VMJ*. 2024 Dec 23;545(3). doi:10.51298/vmj.v545i3.12425
- [7] Ho JR, Arrach N, Rhodes-Long K, Ahmady A, Ingles S, Chung K, et al. Pushing the limits of detection: investigation of cell-free DNA for aneuploidy screening in embryos. *Fertility and Sterility*. 2018 Aug;110(3):467-475.e2. doi:10.1016/j.fertnstert.2018.03.036
- [8] Layek SS, Kanani S, Doultani S, Gohil T, Patil S, Sudhakar A, et al. Analyzing Cell-free Genomic DNA in Spent Culture Media: Noninvasive Insight into the Blastocysts. *Glob Med Genet*. 2024 Sep;11(3):227–32. doi:10.1055/s-0044-1788260 PubMed PMID: 39045037; PubMed Central PMCID: PMC11265834.
- [9] Pan HA, Tang YA, Huang IN, Wang CY, Chien CW, Sun HS. Optimizing Non-Invasive PGT-A: A Multi-Factorial Approach for Enhanced Accuracy and Seamless Integration Into Clinical IVF. *Reprod Med Biol*. 2025;24(1):e12688. doi:10.1002/rmb2.12688 PubMed PMID: 41113626; PubMed Central PMCID: PMC12529454.
- [10] Hammond ER, McGillivray BC, Wicker SM, Peek JC, Shelling AN, Stone P, et al. Characterizing nuclear and mitochondrial DNA in spent embryo culture media: genetic contamination identified. *Fertility and Sterility*. 2017 Jan 1;107(1):220-228. e5. doi:10.1016/j.fertnstert.2016.10.015
- [11] Chen Y, Huang J, Tang F, Wen L, Qiao J. A computational DNA methylation method to remove contaminated DNA from spent embryo culture medium for noninvasive preimplantation genetic testing. *EBioMedicine*. 2025 Apr;114:105669. doi:10.1016/j.ebiom.2025.105669 PubMed PMID: 40158389; PubMed Central PMCID: PMC11994334.
- [12] Rubio C, Navarro-Sánchez L, García-Pascual CM, Ocali O, Cimadomo D, Venier W, et al. Multicenter prospective study of concordance between embryonic cell-free DNA and trophoctoderm biopsies from 1301 human blastocysts. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2020 Nov;223(5):751.e1-751.e13. doi:10.1016/j.ajog.2020.04.035
- [13] Nguyen HTT, Luu TTM, Đỗ LT, Nguyen TC, Nguyen DTN, Ho TTM, et al. Non-invasive preimplantation genetic testing for aneuploidy using cell-free DNA in blastocyst culture medium. *J Assist Reprod Genet*. 2025 Aug;42(8):2587–95. doi:10.1007/s10815-025-03510-9