

# ĐẶC ĐIỂM ĐỘT BIẾN GEN GLOBIN CỦA NHỮNG ĐỐI TƯỢNG NGUY CƠ CAO SINH CON MẮC THALASSEMIA TẠI TRUNG TÂM CHẨN ĐOÁN TRƯỚC SINH BỆNH VIỆN PHỤ SẢN TRUNG ƯƠNG NĂM 2018

Nguyễn Thị Văn Anh<sup>(1)</sup>, Hoàng Thị Ngọc Lan<sup>(1,2)</sup>, Vũ Hương Ly<sup>(1)</sup>, Lê Phương Thảo<sup>(1)</sup>, Trần Danh Cường<sup>(1,2)</sup>  
 (1) Bệnh viện Phụ Sản Trung ương, (2) Trường Đại học Y Hà Nội

DOI 10.46755/vjog.2019.3.1067

**Từ khóa:** Thalassemia; kỹ thuật lai phân tử ngược; đột biến gen globin; chẩn đoán trước sinh.  
**Keywords:** Thalassemia; globin mutation; prenatal diagnosis.

## Tóm tắt

**Mục tiêu:** Mô tả tỉ lệ các đột biến gen  $\alpha$ -globin và  $\beta$ -globin hay gặp.

**Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** 318 đối tượng có nguy cơ cao mang đột biến trên gen  $\alpha$ -globin và  $\beta$ -globin. Các đối tượng được lấy máu và chẩn đoán tìm đột biến nhằm phát hiện các dạng đột biến gen Thalassemia bằng kỹ thuật lai phân tử ngược trên màng và trên thanh lai Strip Assay tại Trung tâm Chẩn đoán trước sinh, Bệnh viện Phụ Sản Trung ương năm 2018.

**Kết quả:** 270/318 trường hợp mang gen đột biến chiếm 85%. Trong đó, có 161/270 người đột biến mang 1 đột biến  $\alpha$ -thalassemia (60%), 66/270 người mang 1 đột biến  $\beta$ -thalassemia (24%) và 43/270 người mang đồng thời 2 đột biến ở trạng thái dị hợp tử kép (16%). Đặc biệt có 2 trường hợp mang đồng thời 3 đột biến:  $--^{SEA} / -\alpha^{4.2} \beta^E$  và  $-\alpha^{3.7} \beta^{Cd17} / \beta^E$ . Đột biến  $--^{SEA}$  trên gen  $\alpha$  globulin chiếm tỉ lệ cao, xuất hiện ở 151/161 trường hợp (93,8%). Các đột biến  $\beta$ -globin hay gặp là HET Cd26 (36,5%), HOM Cd26 (6%), Cd41/42 (25,8%), Cd17 (21,2%), Cd71/72 (6%), IVS 1.1 (3%) và Cd95 (1,5%).

**Kết luận:** Tỉ lệ cao đột biến  $\alpha^0$  và  $\beta^0$  trong cộng đồng, khuyến cáo thực hiện sàng lọc bệnh thalassemia cho tất cả thai phụ trong 3 tháng đầu và tư vấn chẩn đoán trước sinh cho các đối tượng được xác định là người mang đột biến globin.

**Từ khóa:** Thalassemia; kỹ thuật lai phân tử ngược; đột biến gen globin; chẩn đoán trước sinh.

## Abstract

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF INDIVIDUALS WITH HIGH RISK OF HAVING THALASSEMIA CHILDREN AT PRENATAL IAGNOSIS CENTER AT NATIONAL HOSPITAL OF OBSTETRICS AND YNECOLOGY IN 2018

**Objective:** This study aimed to describe common mutations on globin gene.

Tác giả liên hệ (Corresponding author):  
 Hoàng Thị Ngọc Lan,  
 email: hoangthingoclan@hmu.edu.vn  
 Ngày nhận bài (received): 20/04/2019  
 Ngày phản biện đánh giá bài báo (revised):  
 29/04/2019  
 Ngày bài báo được chấp nhận đăng  
 (accepted): 03/05/2019

**Material and Methods:** 318 individuals with high risk of having further effected children in this study. The DNA extracted from blood cells diagnosed the mutation alleles by Reverse hybridization on membrane and test strip Strip Assay in Prenatal Diagnosis Center at National Hospital of Obstetrics and Gynecology in 2018.

**Results:** 270 out of 318 subjects having mutation (85%). Among those, 161 cases had  $\alpha$  - thalassemia mutations (60%), 66 persons had  $\beta$ -thalassemia mutations (24%) and 43 individuals inherited both  $\alpha$  - và  $\beta$ -thalassemia (16%). There are 2 carriers of  $--^{SEA}/\alpha^{4.2}\beta^E$  and  $-\alpha^{3.7}\beta^{Cd17}/\beta^E$ . The ( $--^{SEA}$ ) alleles which is the major mutation on  $\alpha$ -globin appeared on 151 out of 161 cases. The most common mutations on  $\beta$ -globin are Cd26 (42,5%), Cd41/42 (25,8%), Cd17 (21,2%), Cd71/72 (6%), IVS 1.1 (3%) và Cd95 (1,5%).

**Conclusion:** Prevalence of  $\alpha^0$  and  $\beta^0$  mutations on globin gene were high. Recommendation screening thalassemia for all pregnant women in the first trimester of pregnancy and counseling prenatal diagnosis for women who identified as carriers of the globin mutation.

**Keywords:** Thalassemia; globin mutation; prenatal diagnosis.

## 1. Đặt vấn đề

Bệnh Thalassemia hay còn gọi là bệnh tan máu bẩm sinh là bệnh di truyền đột biến gen lặn trên nhiễm sắc thể thường. Có 2 loại Thalassemia chính:  $\alpha$ -thalassemia và  $\beta$ -thalassemia. Trong đó  $\alpha$ -thalassemia thể nặng thường gây hậu quả sớm ngay từ khi thai còn trong bụng mẹ: phôi thai rau, thai chết lưu hoặc chết sớm sau sinh. Ngược lại, những thai  $\beta$ -thalassemia thể nặng thường không phát hiện bất thường trên siêu âm liên quan đến bệnh thalassemia. Tuy nhiên, sau khi sinh từ 6 tháng đến 24 tháng, trẻ mới xuất hiện các triệu chứng của bệnh như thiếu máu nặng, vàng da, lách to, ... Bệnh nhân (chủ yếu là trẻ em) cần được truyền hồng cầu thay thế, thải sắt suốt đời. Kết quả điều trị bệnh thalassemia thể nặng còn gặp nhiều hạn chế do số lượng bệnh nhân lớn trong khi nguồn máu để truyền còn hạn chế, xét nghiệm đánh giá nhiễm sắt và thuốc thải sắt còn thiếu. Muốn giảm gánh nặng bệnh Thalassemia cho xã hội và gia đình thì chẩn đoán trước sinh cần áp dụng cho tất cả các lần mang thai của những cặp vợ chồng đều là người mang gen bệnh. Muốn thực hiện hiệu quả công tác chẩn đoán trước sinh thì việc phát hiện

người mang gen, tư vấn tiền hôn nhân cho các đối tượng này là vô cùng cần thiết. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu "Đặc điểm đột biến gen globin ở những đối tượng có nguy cơ cao sinh con mắc bệnh Thalassemia tại Trung tâm Chẩn đoán trước sinh Bệnh viện Phụ Sản Trung ương năm 2018" với mục tiêu: Mô tả tỉ lệ các đột biến gen  $\alpha$ -globin và  $\beta$ -globin hay gặp.

## 2. Đối tượng và phương pháp

Đối tượng gồm 318 người có nguy cơ cao sinh con mắc Thalassemia được sàng lọc bệnh thalassemia tại Trung tâm Chẩn đoán trước sinh, Bệnh viện Phụ Sản Trung ương: đã từng sinh con mắc bệnh Thalassemia hoặc một người hoặc đồng thời cả 2 vợ chồng được xác định là người có nguy cơ mang gen đột biến Thalssemia: MCV < 85fl, MCH < 28pg. Thời gian từ 01/01/2018 đến ngày 31/12/2018. Phương pháp nghiên cứu mô tả cắt ngang. Sử dụng 2 bộ Kit trong chẩn đoán đột biến gen globin:

- Sàng lọc đồng thời 05 đột biến  $\alpha$ -thalassemia và 16 đột biến  $\beta$ -thalassemia bằng bộ kit Thalassemia Gene Diagnostic Kit xuất xứ Hồng

Kông và có chứng chỉ CE/IVD: --SEA, -α<sup>3.7</sup>, α<sup>4.2</sup>, CS, QS; -28(A-G), -29(A-G), Cap(-AAAC), Int(T-G), CD14/15(+G), CD17(A-T), CD27/28(+C), βE(G-A), 1(-C), CD41/42(-TTCT), CD43(G-T), CD71/72(+A), IVS-I-1(G-T), IVS-I-1(G-A), IVS-I-5(G-C), IVS-I-654(C-T).

- Sàng lọc 21 đột biến α-thalassemia hoặc 22 đột biến β-thalassemia phổ biến ở khu vực Đông Nam Á bằng bộ kit Thalassaemia α-Globin Strip Assay và β-Globin Strip Assay của hãng Vienna Lab (Áo) có chứng chỉ CE/IVD: 3.7, 4.2, MED, SEA, THAI, FIL, 20.5kb, anti 3.7, α1 cd 14 [TGG>TAG], α1 cd 59 [GGC>GAC] (Hb Adana), α2 init cd [ATG>ACG], α2 cd 19 [-G], α2 IVS1 [-5nt], α2 cd 59 [GGC>GAC], α cd 125 [CTG>CCG] (Hb Quang Sze), α2 cd 142 [TAA>CAA] (Hb Constant Spring), α2 cd 142 [TAA>AAA] (Hb Icaria), α2 cd 142 [TAA>TAT] (Hb Pakse), α2 cd 142 [TAA>TCA] (Hb Koya Dora), α2 poly A-1 [AATAAA-AATAAG], α2 poly A-2 [AATAAA-AATGAA]. -31 [A>G], cap+1 [A>C], int cd [ATG>AGG], CD 8/9 [+G], CD 15 [TGG>TAG], CD 17 [A>T], CD 19 [A>G] (Malay), cd 26 (HbE) [G>A], CD 27/28 [+C], IVS1.1 [G>T], IVS 1.5 [G>C], CD 41/42 [-TTCT], CD 43 [G>T], CD 71/72 [+A], CD 89/90 [-GT], CD 90 [G>T], CD 95 [+A], IVS2.1 [G>A], IVS2.654 [C>T], CD 121 [G>T].

Cả 2 bộ kit có cùng nguyên lý hoạt động và quá trình thực hiện trải qua 4 bước sau: (1) tách chiết ADN, (2) gắn mồi đặc hiệu thông qua phản ứng PCR, (3) thực hiện phản ứng lai sản phẩm PCR với đầu dò đặc hiệu trên màng lai hoặc thanh lai, (4) quan sát kết quả trên màng lai và thanh lai, xác định các loại đột biến.

### 3. Kết quả nghiên cứu

#### 3.1. Tỷ lệ phát hiện đột biến gen gây bệnh thalassemia

Trong 318 bệnh nhân, phát hiện 270 người có mang đột biến (một hoặc nhiều đột biến) chiếm tỷ lệ 85% và có 15% trường hợp không phát hiện có đột biến.

#### 3.2. Các loại đột biến trên gen α-thalassemia

Tỷ lệ bệnh nhân mang đột biến dị hợp tử --SEA là chủ yếu, chiếm 93,8%.

Bảng 1. Tỷ lệ các loại đột biến trên gen α-thalassemia

Các loại đột biến gen α-thalassemia	Số bệnh nhân	Tỷ lệ (%)
-SEA (mất đoạn 2 gen)	151	93,8
-THAI (mất đoạn 2 gen)	02	1,2
-α <sup>3.7</sup> (mất đoạn 1 gen)	04	2,6
-α <sup>4.2</sup> (mất đoạn 1 gen)	01	0,6
α <sup>CS</sup>	01	0,6
α <sup>CS</sup>	02	1,2
Tổng số	161	100

#### 3.3. Các loại đột biến trên gen β-thalassemia

Phát hiện 66 người mang đột biến β-thalassemia. Số lượng bệnh nhân mang đột biến Cd26 (HbE) trên gen β-thalassemia là nhiều nhất (29/66). Trong đó, 36,5% chỉ mang 1 đột biến Cd26 và 6% mang đột biến Cd26 trên cả 2 nhiễm sắc thể. Các đột biến khác trên gen β-globin gồm: Cd41/42 (25,8%), Cd17 (21,2%), Cd71/72 (6%), IVS 1.1 (3%) và Cd95 (1,5%).

#### 3.4. Tỷ lệ phát hiện các dạng đột biến bệnh Thalassemia

Trong 270 trường hợp phát hiện đột biến, có 227/270 (84%) số bệnh nhân là người chỉ mang 1 đột biến trên gen α-thalassemia (161/270 trường hợp chiếm 59,6%) hoặc 1 đột biến trên gen β-thalassemia (66/270 trường hợp chiếm 24,4%), 43/270 (16%) là người mang đồng thời 2 đột biến trên gen α và β-thalassemia.

Bảng 2. Các kiểu đột biến gen thalassemia dị hợp tử kép

Các kiểu đột biến gen	Tần số n	Tỷ lệ (%)
Đột biến đồng thời trên cả 2 gen α và β-thalassemia		
-SEA/αα-β/β <sup>E</sup>	12	28
-SEA/αα-β <sup>E</sup> /β <sup>E</sup>	03	7,0
-SEA/αα-β/β <sup>G17</sup>	07	16,3
-SEA/αα-β/β <sup>Cd71/72</sup>	01	2,3
-SEA/αα-β/β <sup>Cd41/42</sup>	04	9,3
-SEA/αα-β/β <sup>MS1.1</sup>	01	2,3
αα <sup>3.7</sup> /αα-β/β <sup>G17</sup>	02	4,7
αα <sup>4.2</sup> /αα-β/β <sup>G17/72</sup>	04	9,3
-SEA/α <sup>4.2</sup> α-β/β <sup>E</sup>	01	2,3
αα <sup>3.7</sup> /αα-β/β <sup>G17</sup>	01	2,3
Đột biến đồng thời trên cả 2 gen α-thalassemia		
-SEA/α <sup>3.7</sup> α	05	11,6
-SEA/α <sup>4.2</sup> α	01	2,3
-SEA/α <sup>CS</sup> α	01	2,3
Tổng	43	100

Đột biến xảy ra đồng thời trên cả 2 gen α-thalassemia và β-thalassemia đa dạng hơn so với đột biến dị hợp tử kép trên gen α-thalassemia.

## 4. Bàn luận

Trong số 318 đối tượng có nguy cơ cao sinh con mắc bệnh Thalassemia, phát hiện 270 trường hợp có mang đột biến thật sự, chiếm 85%. Không phát hiện đột biến ở 15% số bệnh nhân còn lại. Điều này cho thấy phương pháp sàng lọc công thức máu, điện di huyết sắc tố phát hiện những người mang đột biến gen liên quan đến bệnh thalassemia mang lại hiệu quả rõ rệt. Vì vậy, cần áp dụng phương pháp sàng lọc bệnh thalassemia rộng rãi trong cộng đồng.

Trong nhóm phát hiện đột biến, tỉ lệ những người mang đột biến trên gen  $\alpha$ -globin là 60% (161/270) cao gấp 2,4 lần so với nhóm người có trên gen  $\beta$ -globin là 24% (66/270). Kết quả của chúng tôi tương đương với nghiên cứu của Nguyễn Khắc Hàn Hoan (2011) là 71,4% với đột biến  $\alpha$ -thalassemia và 28,6% với đột biến  $\beta$ -thalassemia [1]. Trong số đột biến  $\alpha$ -globin phát hiện được thì đột biến  $\alpha^0$  là phổ biến hơn cả. Đặc biệt là đột biến --<sup>SEA</sup> chiếm tỉ lệ cao nhất 93,8% (151/161). Kết quả của chúng tôi tương đồng với Nguyễn Thị Thu Hà và cộng sự (2016) khi nghiên cứu trên 46 thai phụ được gửi tới Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương tư vấn chẩn đoán trước sinh thì có tới 36 người mang gen --<sup>SEA</sup>, chiếm 80,4% [2]. Đột biến  $\alpha^0$  là đột biến làm mất tổng hợp chuỗi  $\alpha$ -globin. Nếu một cặp vợ chồng cùng mang đột biến  $\alpha^0$  sẽ có xác suất 25% có một thai mang đồng thời cả 2 đột biến  $\alpha^0$ . Với đột biến lớn như vậy, cơ thể không còn sản xuất được chuỗi  $\alpha$ -globin nữa, thay vào đó là 4 chuỗi  $\gamma$ -globin kết hợp với nhau tạo ra HbBart's ( $\gamma_4$ ). HbBart's là loại hemoglobin có ái lực cao với oxy nên không nhả oxy tại tổ chức và tổ chức sẽ bị thiếu oxy. Khi thai nhi phát triển tới 3 tháng cuối, huyết sắc tố phôi thai Portland 2 ( $\zeta_2\gamma_2$ ) không còn nữa, lúc này cơ thể thai nhi chỉ có 1 loại HbBart's gây thiếu oxy nặng, thai phù gây tử vong sớm trong tử cung hoặc ngay sau sinh. Phù thai rau là bất thường có thể phát hiện được trên hình ảnh siêu âm, là dấu hiệu gợi ý các cặp vợ chồng tới Trung tâm Chẩn đoán trước sinh, Bệnh viện Phụ Sản Trung ương. Đây là lý do giải thích cho nghiên cứu của chúng tôi có tỉ lệ phát hiện đột biến  $\alpha$ -thalassemia đặc biệt là đột biến SEA cao hơn hẳn so với đột biến  $\beta$ -thalassemia. Ngoài đột biến --<sup>SEA</sup>, chúng tôi gặp 2 trường hợp khác có mang đột biến  $\alpha^0$  nữa là đột biến --<sup>THAI</sup>. Đây cũng là 1 đột biến mất đoạn 2 gen trên gen  $\alpha$ -globin

phổ biến ở khu vực Đông Nam Á. Nếu một người có đột biến này kết hôn cùng với một người mang đột biến --<sup>SEA</sup> thì họ cũng có xác suất 25% có thai mắc bệnh  $\alpha$ -thalassemia, thai phù, tử vong sớm. Dù đột biến --<sup>THAI</sup> ít gặp nhưng cũng gây hậu quả nặng nề cho thai nên vẫn cần tư vấn tiền hôn nhân và chẩn đoán trước sinh cho những đối tượng này.

Các đột biến khác trên gen  $\alpha$ -thalassemia bao gồm:  $-\alpha^{3.7}$  với 2,6% (4/161);  $-\alpha^{4.2}$  với 0,6% (1/161); Hb Quang Sze (HbQS) với 0,6% (1/161) và Hb Constant Spring (HbCs) với 1,2% (2/161). Đây là các đột biến  $\alpha^+$ -thalassemia gây giảm tổng hợp chuỗi  $\alpha$ -globin hoặc tạo ra các biến thể khác nhau của chuỗi  $\alpha$ -globin. Bản thân những người mang đột biến  $\alpha^+$  có biểu hiện thiếu máu nhẹ hoặc thậm chí không thiếu máu, tuy nhiên các chỉ số hồng cầu MCV và MCH giảm thấp hơn giá trị bình thường. Khi 2 người cùng mang đột biến  $\alpha^+$  kết hôn với nhau thì họ có thể sinh trẻ mang đột biến ở trạng thái dị hợp tử kép. Vì đột biến  $\alpha^+$  chỉ làm giảm nhẹ tổng hợp chuỗi  $\alpha$ -globin nên dù là dị hợp tử kép thì đời sống hồng cầu cũng không bị ảnh hưởng nhiều. Do vậy, với những trường hợp này có thể xem xét tới khả năng giữ thai. Khi những người này kết hôn với một người mang đột biến  $\alpha^0$  sẽ có nguy cơ sinh con bị bệnh HbH ( $\beta_4$ ) là 25%. Thai nhi mắc bệnh HbH vẫn phát triển và ra đời khỏe mạnh, tuy nhiên tùy từng đặc điểm cá thể mà đứa trẻ trong vài năm đầu sẽ có biểu hiện thiếu máu nhẹ, trung bình hay nặng. Các nghiên cứu cho thấy mối tương quan giữa kiểu gen và biểu hiện lâm sàng (kiểu hình) của bệnh thalassemia không chặt chẽ [3]. Bác sĩ huyết học cần dựa vào triệu chứng lâm sàng, xét nghiệm để quyết định mức độ nặng, nhẹ của bệnh và xem xét các biện pháp điều trị phù hợp [4]. Vì vậy, sau khi sàng lọc phát hiện người mang gen  $\alpha$ -thalassemia thì dù đó là đột biến  $\alpha^0$  hay  $\alpha^+$  cũng cần phải được tư vấn tiền hôn nhân đầy đủ.

Bộ kit  $\beta$ -globin Strip Assay có thể phát hiện 22 đột biến  $\beta$ -globin hay gặp ở khu vực Đông Nam Á. Tuy nhiên, trên thực tế trong nghiên cứu này chúng tôi chỉ gặp 6 kiểu đột biến là: HET CD26 (36,5%), HOM CD26 (6%), CD41/42 (25,8%), CD17 (21,2%), CD71/72 (6%), IVS 1.1 (3%) và CD95 (1,5%). Các kiểu đột biến này đều nằm trong nhóm các đột biến trên gen  $\beta$ -globin phổ biến hay gặp ở Đông Nam Á và Việt Nam [5],[6]. Nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự nghiên cứu của các tác giả khác như

Ngô Diễm Ngọc trên các đối tượng có nguy cơ cao mang gen ở miền Bắc Việt Nam: CD41/42 (31,2%), CD17 (28,6%), CD26 (23,2%) [4], tác giả Nguyễn Thị Thu Hà: CD17 (30,6%), CD41/42 (27,6%), CD26 (24,5%), IVS1.1 (5,1%), CD71/72 (3,1%), CD95 (0,5%) [2]. Có sự tương đồng giữa các nghiên cứu khác nhau của các tác giả khác nhau về các kiểu đột biến trên gen  $\beta$ -globin. Tuy nhiên, tỉ lệ từng loại đột biến có sự khác nhau. Cụ thể, trong nghiên cứu của chúng tôi thì đột biến CD26 (HbE) chiếm tỉ lệ cao nhất. Trong đó, có 4 trường hợp đột biến CD26 xảy ra trên cả 2 nhiễm sắc thể với biểu hiện lâm sàng và trên xét nghiệm là thiếu máu mức độ nhẹ, không có chỉ định truyền máu. Đột biến CD26 là đột biến thuộc nhóm  $\beta^+$ , tạo ra biến thể của chuỗi  $\beta$ -globin là HbE có khả năng vận chuyển oxy kém hơn so với HbA nên dù bệnh nhân ở trạng thái đồng hợp tử CD26 cũng chỉ có thiếu máu nhẹ. Tuy nhiên, khi kết hợp với 1 đột biến  $\beta^0$  như CD41/42, CD17, CD71/72, IVS1.1, CD95 sẽ tạo kiểu gen  $\beta$ -thalassemia/HbE có biểu hiện thiếu máu từ trung bình đến nặng. Theo báo cáo của Tổ chức Y tế thế giới (WHO) nhóm bệnh nhân  $\beta$ -thalassemia/HbE gặp nhiều ở Đông Nam Á chiếm 66% [7]. Các đột biến  $\beta^0$  là đột biến gây mất khả năng tổng hợp chuỗi  $\beta$ -globin. Do vậy, 2 đột biến  $\beta^0$  phối hợp với nhau sẽ có kiểu hình ở mức độ nặng, cần truyền máu định kỳ. Theo nghiên cứu của chúng tôi với tình hình đột biến  $\beta^0$  chiếm tỉ lệ cao như vậy thì khả năng trẻ sinh ra trong gia đình bố mẹ đều có gen  $\beta$ -thalassemia cần phải truyền máu là rất cao. Không giống như thể  $\alpha$ -thalassemia, hình ảnh siêu âm của thai thể  $\beta$ -thalassemia sẽ không cho thấy bất thường liên quan đến bệnh. Triệu chứng sẽ xuất hiện khi trẻ từ 6 tháng cho tới 24 tháng tuổi với biểu hiện thiếu máu nặng hoặc trung bình, suy sinh dưỡng, chậm phát triển vận động, gan to, lách to, biến dạng xương do tăng tạo máu quá mức, ... Nhiều cặp vợ chồng không biết mình mang gen cho đến khi sinh con bị bệnh thalassemia. Do đó, cần chủ động sàng lọc bắt buộc bệnh thalassemia cho tất cả thai phụ ở 3 tháng đầu.

Trong 270 người phát hiện mang gen bệnh Thalassemia, chúng tôi gặp 43 trường hợp là người mang đột biến ở trạng thái dị hợp tử kép. Nhóm 1 gồm 7 bệnh nhân mang đồng thời 2 đột biến trên gen  $\alpha$ -globin. Cả 7 trường hợp đều có gen đột biến mất đoạn 2 gen  $--^{SEA}$ . Nhóm 2 gồm 36 người mang đột biến đồng thời trên gen  $\alpha$ -globin và  $\beta$ -globin.

Cụ thể, ghi nhận 7 bệnh nhân HbH (bảng 2): 5 trường hợp có kiểu gen  $--^{SEA} / -\alpha^{3.7}$ ; 1 trường hợp  $--^{SEA} / -\alpha^{4.2}$  và 1 trường hợp  $--^{SEA} / \alpha^{CS\alpha}$ . Trong đó, chỉ duy nhất bệnh nhân  $--^{SEA} / \alpha^{CS\alpha}$  cần phải truyền máu, 6 trường hợp còn lại mặc dù mất 3 gen  $\alpha$ -globin nhưng đều thiếu máu nhẹ, bệnh nhân chưa bao giờ truyền máu. Điều này được giải thích là do đột biến HbCs gây biểu hiện lâm sàng nặng hơn so với đột biến  $-\alpha^{3.7}$ . Đột biến HbCs là đột biến điểm xảy ra trên gen  $\alpha 2$ -globin, làm biến đổi bộ ba 3 kết thúc TAA thành CAA, tạo nên 1 chuỗi globin dài hơn chuỗi  $\alpha$ -globin bình thường 31 acid amin. Ở bệnh nhân  $\alpha$ -thalassemia  $--^{SEA} / \alpha^{CS\alpha}$ , phân tử Cs cạnh tranh với chuỗi  $\alpha$ -globin để kết hợp với chuỗi  $\beta$ -globin, làm giảm HbA1, chất lượng hồng cầu của bệnh nhân bị ảnh hưởng nặng nề, tan máu làm thiếu máu mức độ trung bình đến nặng, nên bệnh nhân phải truyền máu định kỳ. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi khác so với nghiên cứu của tác giả Nguyễn Thị Thu Hà trên 41 người nghi ngờ mang gen bệnh:  $--^{SEA}$  (70,7%), HbCs (9,8%),  $-\alpha^{3.7}$  (7,3%),  $-\alpha^{4.2}$  (2,4%) [2]. Sự khác biệt này vì đối tượng trong nghiên cứu này hầu hết là người không có biểu hiện lâm sàng, họ đến Trung tâm Chẩn đoán trước sinh vì đã từng hoặc đang mang thai bất thường hoặc có con mắc bệnh Thalassemia, thậm chí có trường hợp là tình cờ phát hiện khi được làm xét nghiệm công thức máu cơ bản. Ngược lại, trong nghiên cứu của Nguyễn Thị Thu Hà, đối tượng là bệnh nhân  $\alpha$ -thalassemia và người nhà của bệnh nhân nên tỉ lệ người mang kiểu đột biến  $--^{SEA} / \alpha^{CS\alpha}$  sẽ cao hơn so với nghiên cứu của chúng tôi. Qua đây có thể thấy rằng trong cộng đồng có thể còn nhiều người bệnh HbH chưa được phát hiện.

Theo bảng 6, hầu hết trong nhóm 2 là những người mang 1 đột biến trên gen  $\alpha$ -globin và 1 đột biến trên gen  $\beta$ -globin (34/36). Tương tự như nhóm mang 1 đột biến trên gen  $\alpha$ -globin, đột biến  $--^{SEA}$  vẫn là đột biến hay gặp nhất, 28/34 trường hợp, các đột biến  $\alpha$ -globin còn lại là  $-\alpha^{3.7}$  (2/34) và  $-\alpha^{4.2}$  (4/34). Đột biến thứ 2 nằm trên gen  $\beta$ -globin vẫn gồm các kiểu đột biến phổ biến hay gặp ở Đông Nam Á như nhóm chỉ mang 1 đột biến  $\beta$ -thalassemia: CD26, CD17, CD41/42, CD71/72, IVS1.1. Những người này được sinh ra trong gia đình bố mẹ mang cả 2 đột biến trên gen  $\alpha$ -globin và  $\beta$ -globin. Bản thân họ có thiếu máu mức độ nhẹ, biểu hiện lâm sàng không rõ ràng, kết quả công thức máu cơ bản có

lượng Hb thấp, chỉ số hồng cầu MCV, MCH giảm, kết quả điện di huyết sắc tố có xu hướng của thể bệnh  $\beta$ -thalassemia: HbA giảm, HbA2 tăng, có thể có HbE và HbF. Chính vì vậy nếu chỉ tìm đột biến gen cho những đối tượng này trên gen  $\beta$ -globin rất có thể sẽ bỏ qua đột biến  $\alpha$ -thalassemia. Nếu họ kết hôn với người có đột biến  $\alpha$ -globin thì thai có nguy cơ cao mắc bệnh  $\alpha$ -thalassemia.

2/36 trường hợp còn lại là người mang 3 đột biến đồng thời trên cả 2 gen  $\alpha$ -globin và  $\beta$ -globin: 1 người có 2 đột biến trên gen  $\alpha$ -globin cùng 1 đột biến trên gen  $\beta$ -globin và 1 người có 1 đột biến trên gen  $\alpha$ -globin cùng 2 đột biến  $\beta$ -globin. Cụ thể, trường hợp người có kiểu gen  $\alpha 3.7/CD17/CD26$ . Bình thường, nếu 1 người có 2 đột biến trên gen  $\beta$ -globin thì người đó sẽ có kiểu hình thiếu máu mức độ nặng, phụ thuộc truyền máu. Tuy nhiên bệnh nhân này mang thêm đột biến mất 1 gen  $\alpha^+$  3.7 có kiểu hình không phụ thuộc truyền máu. Bệnh nhân đến với chúng tôi vì đã có 1 con trai 5 tuổi mắc bệnh  $\beta$ -thalassemia phụ thuộc truyền máu định kỳ 1 tháng 1 lần. Vợ bệnh nhân là người mang đột biến CD41/42 trên gen  $\beta$ -globin. Với gia đình bệnh nhân này, khi làm chẩn đoán đột biến gen cho người vợ và thai nhi, chúng tôi sử dụng phương pháp lai ngược trên màng lai của hãng HybriBio phát hiện đồng thời 5 đột biến  $\alpha$ -thalassemia và 16 đột biến  $\beta$ -thalassemia. Kết quả thai nhi chỉ nhận 1 đột biến CD17 từ người bố. Đến nay, trẻ đã 7 tháng tuổi và không có biểu hiện thiếu máu. Trường hợp còn lại có kiểu gen  $--SEA/\alpha^{4.2}\alpha/\beta^E$ . Bệnh nhân mang thai lần đầu, đến Trung tâm Chẩn đoán trước sinh vì thai 30 tuần, theo dõi phù thai. Bệnh nhân và chồng chưa bao giờ phải truyền máu. Bệnh nhân thiếu máu mức độ trung bình Hb:

89g/l, chỉ số hồng cầu giảm: MCV: 52,1; MCH: 17,2 và kết quả điện di hướng tới thể  $\alpha$ -thalassemia: HbA: 85,9%; HbA2: 2,8% và có HbE: 11,3%. Chồng bệnh nhân mang đột biến dị hợp tử  $--SEA$  trên gen  $\alpha$ -globin. Trường hợp này sau đó đã đình chỉ thai nghén. Vì vậy, người mang đồng thời đột biến trên cả gen  $\alpha$ -globin và  $\beta$ -globin cần được tư vấn nên kết hôn với người hoàn toàn không có đột biến nào. Nếu đối tượng họ kết hôn là người mang gen dù là  $\alpha$ -thalassemia hay  $\beta$ -thalassemia thì tất cả những lần người vợ mang thai đều cần được chẩn đoán trước sinh. Trong trường hợp kết quả chẩn đoán trước sinh cho thấy thai mang đồng thời 3 đột biến có thể tư vấn xem xét đến khả năng giữ, theo dõi thai.

## 5. Kết luận

Bằng cách sử dụng phối hợp 2 phương pháp lai phân tử ngược trên màng và trên thanh lai Strip Assay có thể phát hiện được người không những mang một đột biến globin mà có đồng thời nhiều đột biến globin. Tỷ lệ phát hiện đột biến là: 1 đột biến  $\alpha$  - thalassemia (60%), 1 đột biến  $\beta$ -thalassemia (24%) và nhiều đột biến ở trạng thái dị hợp tử kép (16%). Đột biến  $--SEA$  trên gen  $\alpha$  globulin chiếm tỷ lệ cao, 93,8%. Các đột biến  $\beta$ -globin hay gặp là HET CD26 (36,5%), HOM CD26 (6%), CD41/42 (25,8%), CD17 (21,2%), CD71/72 (6%), IVS 1.1(3%) và CD95 (1,5%). Với tỷ lệ đột biến  $\alpha^0$  và  $\beta^0$  trong cộng đồng cao như vậy, chúng tôi khuyến cáo thực hiện sàng lọc bệnh thalassemia cho tất cả thai phụ trong 3 tháng đầu và tư vấn chẩn đoán trước sinh cho các đối tượng được xác định là người mang đột biến globin.

## Tài liệu tham khảo

1. Nguyễn Khắc Hàn Hoan. Nghiên cứu tầm soát và chẩn đoán trước sinh bệnh alpha và beta thalassemia. Luận án tiến sĩ Y khoa. 2013.
2. Nguyễn Thị Thu Hà. Nghiên cứu đặc điểm đột biến gen globin và theo dõi điều trị thải sắt ở bệnh nhân Thalassemia tại viện Huyết học - Truyền máu Trung ương giai đoạn 2013-2016. Luận án Tiến sĩ Y khoa. 2016.
3. Viprakasit V. Alpha thalassemia syndromes: from clinical and molecular diagnosis to bedside management. Hematology Education programme: the education programme for annual congress of the European Hematology Association. 2013; 7: 11-19.
4. Ahmad R, Saleem M, Sabrina R, et al. Distribution of alpha thalassaemia gene variants in diverse ethnic populations in Malaysia: data

from the institute for medical research. International journal of molecular sciences. 2013; 14(9), page 18599-18614

5. Ngô Diễm Ngọc, Lý Thị Thanh Hà, Ngô Thị Tuyết Nhung. Sàng lọc và chẩn đoán trước sinh bệnh  $\alpha$  và  $\beta$ -thalassemia trên các thai phụ có nguy cơ cao tại bệnh viện Nhi TW. Y học Việt Nam. Tháng 9 số đặc biệt. 2015; tr. 83-92.
6. Viprakasit V., Chanin L., et al. Problems in determining thalassemia carrier status in a program for prevention and control of severe thalassemia syndrome: a lesson from Thailand. Clin Chem Lab Med. 2013; 51 (8) page 1605-1614.
7. Bernadette Modella & Matthew Darlisona. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. Bulletin of the World Health Organization. 2008; 86:480-487