

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Nguyễn Thị Thu Hà, nghiên cứu sinh khóa 32 - Trường Đại học Y Hà Nội, chuyên ngành Huyết học - Truyền máu, tôi xin cam đoan:

1. Đây là luận án do tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của GS.TS. Nguyễn Anh Trí - Viện trưởng Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương, Phó Chủ nhiệm Bộ môn Huyết học - Truyền máu, Trường Đại học Y Hà Nội và PGS.TS. Lê Xuân Hải - Trưởng khoa Miễn dịch - Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương.
2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.
3. Các số liệu và thông tin trong nghiên cứu là chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nơi nghiên cứu. Tôi hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật về những cam kết này.

Hà Nội, ngày tháng năm 2017

LỜI CẢM ƠN

Hoàn thành luận án này, cho phép tôi bày tỏ lòng biết ơn và cảm ơn chân thành tới :

- Đảng ủy, Ban Giám hiệu, Phòng Quản lý Đào tạo Sau đại học, Bộ môn Huyết học - Truyền máu - Trường Đại học Y Hà Nội đã tạo điều kiện, giúp đỡ tôi hoàn thành luận án Tiến sĩ.

- Đảng ủy, Ban Lãnh đạo Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương, Hội đồng khoa học, các khoa/phòng của Viện đã ủng hộ và tạo mọi điều kiện cho tôi trong quá trình công tác và thực hiện đề tài nghiên cứu.

Với lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc, tôi xin được bày tỏ lòng biết ơn của mình tới:

- **GS.TS. Nguyễn Anh Trí** - Viện trưởng Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương, người Thầy đã tận tình hướng dẫn, truyền đạt cho tôi những kiến thức, phương pháp nghiên cứu khoa học vô cùng quý giá; động viên và tạo điều kiện tốt nhất cho tôi trong suốt quá trình thực hiện luận án.

- **GS.TS. Phạm Quang Vinh** - Chủ nhiệm Bộ môn Huyết học - Truyền máu, người Thầy dành nhiều tâm sức đào tạo, hướng dẫn và động viên giúp đỡ để tôi có được những kiến thức giá trị, những ý kiến rất quý báu trong suốt thời gian học tập và thực hiện nghiên cứu này.

- **PGS.TS. Lê Xuân Hải** - Trưởng khoa Miễn dịch Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương, người thầy đã tận tình hướng dẫn, truyền đạt cho tôi những kiến thức, phương pháp nghiên cứu khoa học vô cùng quý giá; giúp đỡ và động viên tôi trong suốt quá trình thực hiện luận án.

- **TS. Bạch Quốc Khánh** - Phó Viện trưởng Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương, người Thầy đã luôn truyền đạt cho tôi những kiến thức chuyên môn quý báu, động viên và tạo điều kiện tốt nhất cho tôi trong suốt quá trình công tác và thực hiện luận án này.

- PGS.TS. Nguyễn Hà Thanh, PGS.TS Bùi Thị Mai An, TS. Dương Quốc Chính đã tận tình giúp đỡ, chia sẻ với tôi những kiến thức, kinh nghiệm, những tài liệu tham khảo rất quý giá trong quá trình thực hiện nghiên cứu.

- Tập thể cán bộ Trung tâm thalassemia, khoa Di truyền sinh học phân tử, khoa Miễn dịch, khoa Tế bào tổ chức học, khoa Sinh hóa và những đồng nghiệp tại Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương đã dành cho tôi những tình cảm quý mến, sự động viên kịp thời, cũng như sự hỗ trợ, chia sẻ trong công việc và trong quá trình học tập.

Tôi xin chân thành cảm ơn Khoa Chẩn đoán hình ảnh Bệnh Viện Bạch Mai, Trung tâm Tim mạch Bệnh viện E, đã tạo điều kiện giúp đỡ tôi suốt những năm tháng thực hiện nghiên cứu tại đây.

Tôi xin chân thành cảm ơn các bệnh nhân thalassemia và người nhà bệnh nhân đã luôn tin tưởng và ủng hộ, hợp tác với tôi trong suốt quá trình tôi làm việc và nghiên cứu tại trung tâm thalassemia để tôi hoàn thành luận án này.

Tôi xin được bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến Cha Mẹ, Chồng, các Con và những người thân trong gia đình đã thường xuyên động viên, khích lệ, tạo cho tôi nguồn động lực, giúp tôi chuyên tâm học tập, nghiên cứu và không ngừng phấn đấu. Xin cảm ơn bạn bè đã chia sẻ, giúp đỡ tôi mọi mặt trong quá trình học tập và hoàn thành luận án tốt nghiệp này.

Hà Nội, ngày tháng năm 2017

Nguyễn Thị Thu Hà

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN	ii
MỤC LỤC	iv
DANH MỤC BẢNG	vii
DANH MỤC HÌNH.....	ix
DANH MỤC BIỂU ĐỒ.....	x
DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT	xi
ĐẶT VẤN ĐỀ	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN.....	3
1.1. Bệnh thalassemia	3
1.1.1. Đặc điểm dịch tễ học bệnh thalassemia	3
1.1.2. Cơ chế bệnh sinh	4
1.1.3. Chẩn đoán, phân loại bệnh thalassemia	6
1.1.4. Điều trị bệnh thalassemia	6
1.2. Đột biến gen globin và các phương pháp phát hiện	7
1.2.1. Gen globin và các đột biến.....	7
1.2.2. Các phương pháp xác định đột biến gen globin thông dụng	13
1.2.3. Các nghiên cứu xác định đột biến gen globin.....	17
1.3. Quá tải sắt ở bệnh nhân thalassemia và phương pháp đánh giá	19
1.3.1. Phân bố sắt ở người bình thường:	19
1.3.2. Quá trình chuyển hóa sắt.....	21
1.3.3. Quá tải sắt ở bệnh nhân thalassemia	23
1.3.4. Các phương pháp đánh giá quá tải sắt.....	28
1.3.5. Các nghiên cứu tình trạng quá tải sắt ở bệnh nhân thalassemia	34
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	37
2.1. Đối tượng nghiên cứu	37

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu.....	37
2.1.2. Tiêu chuẩn lựa chọn và loại trừ.....	39
2.2. Phương pháp nghiên cứu	40
2.2.1. Thiết kế nghiên cứu.....	40
2.2.2. Các chỉ số nghiên cứu	41
2.2.3. Cách chọn mẫu, các bước tiến hành.....	44
2.3. Các tiêu chuẩn đánh giá, kỹ thuật và phương pháp.....	47
2.3.1. Các tiêu chuẩn chẩn đoán.....	47
2.3.2. Các phương pháp và kỹ thuật xét nghiệm.....	55
2.4. Xử lý số liệu.....	60
2.5. Đạo đức nghiên cứu.....	61
2.6. Thời gian nghiên cứu	61
2.7. Địa điểm nghiên cứu.....	61
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.....	62
3.1. Xét nghiệm phát hiện đột biến gen globin bằng Globin Strip Assay	62
3.1.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu.....	62
3.1.2. Kết quả chẩn đoán đột biến gen globin bằng StripAssay	65
3.2. Kết quả đánh giá quá tải sắt bằng MRI	74
3.2.1. Đặc điểm chung đối tượng nghiên cứu	74
3.2.2. Kết quả đánh giá mức độ quá tải sắt ở bệnh nhân thalassemia.....	75
3.2.3. Mối liên quan giữa quá tải sắt với tổn thương các cơ quan	81
3.2.4. Sự thay đổi các chỉ số quá tải sắt sau 1 năm điều trị.....	88
CHƯƠNG 4. BÀN LUẬN.....	95
4.1. Bàn luận về đặc điểm đột biến gen globin được xác định bằng Strip Assay tại Viện Huyết học Truyền máu Trung ương.....	95
4.1.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu.....	95

4.1.2. Đặc điểm xác định đột biến gen globin ở người bệnh/ người nghi ngờ mang gen bệnh thalassemia.....	105
4.2. Bàn luận về kết quả nghiên cứu ứng dụng MRI trong chẩn đoán và đánh giá hiệu quả điều trị quá tải sắt ở bệnh nhân thalassemia.....	115
4.2.1. Đặc điểm chung đối tượng nghiên cứu	115
4.2.2. Đặc điểm quá tải sắt tại các tổ chức.....	117
4.2.3. Đặc điểm tổn thương tổ chức do quá tải sắt.....	125
4.2.4. Sự thay đổi tình trạng quá tải sắt sau 1 năm điều trị thải sắt thường xuyên	135
KẾT LUẬN	143
KIẾN NGHỊ	145
CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN	
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	
DANH SÁCH ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU	

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1.1. Các đột biến gây bệnh β -thalassemia thường gặp ở người Việt Nam...	10
Bảng 1.2. Sự phân bố sắt trong cơ thể người.....	19
Bảng 1.3. Tốc độ tích lũy sắt do truyền máu ở bệnh nhân không dùng thuốc thải sắt	24
Bảng 2.1. Cách tính điểm và phân loại mức độ bệnh thalassemia	49
Bảng 2.2. Tiêu chuẩn phân loại theo truyền máu	50
Bảng 2.3. Chỉ số ferritin huyết thanh theo các mức độ quá tải sắt	51
Bảng 2.4. Chỉ số LIC theo các mức độ quá tải sắt tại gan.....	51
Bảng 2.5. Chỉ số T2* tim theo các mức độ quá tải sắt tại tim	51
Bảng 2.6. Các mức độ quá sắt trong gan	59
Bảng 2.7. Các mức độ quá tải sắt trong tim.....	59
Bảng 3.1. Đặc điểm đối tượng nghiên cứu	62
Bảng 3.2. Đặc điểm chung của nhóm bệnh nhân thalassemia	62
Bảng 3.3. Đặc điểm chung của người nghi mang gen bệnh thalassemia.....	63
Bảng 3.4. Đặc điểm về tiền sử sinh đẻ của sản phụ	64
Bảng 3.5. Các kiểu gen của bố mẹ thai nhi.....	64
Bảng 3.6. Kết quả chẩn đoán trước sinh tế bào dịch ối thai nhi	65
Bảng 3.7. Các kiểu đột biến gen α -globin phát hiện được trên thai nhi.....	66
Bảng 3.8. Các kiểu đột biến gen β -globin phát hiện được trên thai nhi	67
Bảng 3.9. Các đột biến α -globin phát hiện được ở người nghi ngờ mang gen bệnh α -thalassemia.....	68
Bảng 3.10. Các đột biến phát hiện được ở bệnh nhân α -thalassemia	69
Bảng 3.11. Các đột biến β -globin phát hiện được ở người nghi ngờ mang gen bệnh β -thalassemia.....	69
Bảng 3.12. Các đột biến phát hiện được ở bệnh nhân β -thalassemia.....	70

Bảng 3.13. Nồng độ Hb trung bình theo các kiểu gen β -globin.....	71
Bảng 3.14. Tỷ lệ các alen đột biến α -globin được phát hiện	72
Bảng 3.15. Tỷ lệ các alen đột biến β -globin được phát hiện.....	72
Bảng 3.16. Kết quả các đột biến gen β -globin được xác định bằng β -globin Strip Assay và giải trình tự gen β -globin.....	73
Bảng 3.17. Đặc điểm chỉ số hồng cầu và thành phần huyết sắc tố của một số người có đột biến hiếm gặp.....	74
Bảng 3.18. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu	74
Bảng 3.19. Tỷ lệ các mức độ ferritin huyết thanh ở hai nhóm bệnh nhân phụ thuộc truyền máu và không phụ thuộc truyền máu (TDT và NTDT).....	76
Bảng 3.20. Tỷ lệ các mức độ quá tải sắt tại gan (LIC) ở hai nhóm bệnh nhân TDT và NTDT.....	77
Bảng 3.21. Tỷ lệ các mức độ quá tải sắt tại tim (T2* tim) ở hai nhóm bệnh nhân TDT và NTDT	78
Bảng 3.22. Mối liên quan giữa quá tải sắt tại tim và ferritin huyết thanh ở bệnh nhân thalassemia.....	80
Bảng 3.23. Mối liên quan giữa quá tải sắt tại tim và LIC ở bệnh nhân thalassemia	81
Bảng 3.24. Mối liên quan giữa LIC và chỉ số xơ gan (APRI*) ở bệnh nhân thalassemia	81
Bảng 3.25. Mối liên quan giữa quá tải sắt tại tim với sức bóp cơ tim ở bệnh nhân thalassemia	82
Bảng 3.26. Mối liên quan giữa quá tải sắt tại tim với rối loạn nhịp tim ở bệnh nhân thalassemia	83
Bảng 3.27. Mối liên quan giữa LIC và giảm sức bóp cơ tim.....	83
Bảng 3.28. Mối liên quan giữa ferritin huyết thanh với giảm sức bóp cơ tim....	84

Bảng 3.29. Mối liên quan giữa T2* tim, LIC, ferritin với tỷ lệ giảm hormon sinh dục ở bệnh nhân nam trên 15 tuổi	86
Bảng 3.30. Mối liên quan giữa T2* tim, LIC, ferritin với tỷ lệ bệnh nhân giảm hormon tuyến cận giáp	87
Bảng 3.31. Mối liên quan giữa T2* tim, LIC, ferritin với tỷ lệ bệnh nhân giảm hormon tuyến giáp.....	87
Bảng 3.32. Mối liên quan giữa T2* tim, LIC, ferritin với chỉ số HbA1C.....	88
Bảng 3.33. Đặc điểm chung của nhóm điều trị thải sắt thường xuyên	89
Bảng 3.34. Giá trị trung bình các chỉ số đánh giá quá tải sắt trước và sau điều trị thải sắt 1 năm	90
Bảng 3.35. Sự thay đổi LIC và ferritin sau 1 năm điều trị thải sắt thường xuyên	91
Bảng 3.36. Sự thay đổi LIC và T2* tim ở bệnh nhân có quá tải sắt tại tim sau 1 năm điều trị thải sắt thường xuyên.....	92
Bảng 3.37. Giá trị trung bình các chỉ số đánh giá quá tải sắt sau 1 năm không điều trị thải sắt thường xuyên.....	93

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1. Cơ chế bệnh sinh của bệnh β -thalassemia	5
Hình 1.2. Cấu trúc gen β -globin.....	8
Hình 1.3. Cấu trúc gen α -globin.....	11
Hình 1.4. Cơ chế điều hòa chuyển hóa sắt của hepcidin	24
Hình 1.5. Cơ chế bệnh sinh của tình trạng quá tải sắt	26
Hình 1.6. Đồ thị diễn tả các mức thời gian suy giảm 63% tín hiệu.....	32
Hình 1.7. Hình ảnh tín hiệu Echo tại các thời gian phản hồi TE	32
Hình 2.1. Sơ đồ nghiên cứu.....	46
Hình 2.1. Ảnh định vị gan theo trục sagittal và coronal để lấy lát cắt axial giữa gan.....	57
Hình 2.2. Ảnh định vị 4 buồng tim và vị trí chụp theo trục ngắn giữa tim	57
Hình 2.3. Đo trên ROI cùng vị trí như nhau trên tất cả các TE	57

DANH MỤC CÁC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3.1. Tỷ lệ giới tính của nhóm nghiên cứu.....	75
Biểu đồ 3.2. Mối tương quan giữa ferritin và LIC ở hai nhóm bệnh nhân TDT và NTDT	79
Biểu đồ 3.3. Mối tương quan giữa ferritin và T2*tim ở bệnh nhân thalassemia	79
Biểu đồ 3.4. Mối tương quan giữa LIC và T2* tim ở bệnh nhân thalassemia ..	80
Biểu đồ 3.5. Mối tương quan giữa LIC và prothrombin.....	82
Biểu đồ 3.6. Tỷ lệ bệnh nhân bị giảm các loại hormon	84
Biểu đồ 3.7. Tỷ lệ bệnh nhân bị giảm các loại hormon theo các mức độ quá tải sắt tại tim (T2*tim).....	85
Biểu đồ 3.8. Tỷ lệ bệnh nhân thay đổi LIC sau 1 năm điều trị thải sắt thường xuyên.....	89
Biểu đồ 3.9. Tỷ lệ các mức độ quá tải sắt trước và sau điều trị	90
Biểu đồ 3.10. Mối tương quan giữa sự thay đổi LIC và ferritin huyết thanh .	91
Biểu đồ 3.11. Tỷ lệ bệnh nhân có biến chứng tại các tổ chức trước và sau 1 năm điều trị thải sắt thường xuyên.....	92
Biểu đồ 3.12. Tỷ lệ các mức độ quá tải sắt sau 1 năm không điều trị thải sắt thường xuyên.....	93
Biểu đồ 3.13. Tỷ lệ bệnh nhân có biến chứng tại các tổ chức sau 1 năm không điều trị thải sắt thường xuyên.....	94

CÁC CHỮ VIẾT TẮT

α	: Alpha
β	: Beta
δ	: Delta
γ	: Gamma
ξ	: Zetta
ADN	: Acid Deoxyribo Nucleotit
ARMS (Amplification refractory mutation system)	: Hệ thống khuếch đại đột biến có tính trơ
ARN	: Acid ribonucleic
ddNTP	: Dideoxynucleotide triphosphate
dNTP	: Deoxynucleotide triphosphate
FIL	: Filipino
FSH (Follicle-stimulating hormone)	: Hormon kích thích nang trứng, Hormon thụ trước tuyến yên, điều tiết sinh sản cả nam và nữ
FT4 (Free thyroxine Hormon)	: Hormon tuyến giáp
Hb (Hemoglobin)	: Huyết sắc tố
HbA1C (Glycated Hemoglobin)	: Huyết sắc tố gắn glucose máu (glycate hóa)
HC	: Hồng cầu
HbE	: Hemoglobin E
HbF	: Hemoglobin fetal
HbCs	: Hemoglobin Constant Spring
HbQs	: Hemoglobin Quong Sze
HPLC (High Performance Liquid Chromatography)	: Sắc ký lỏng cao áp

HS (Hypersensitive sites)	: Vị trí nhạy cảm
IVS (Intervening sequence)	: Trình tự chèn hay intron
LCR (Locus Control Region)	: Vùng kiểm soát gen
LH (Luteinizing hormone)	: Hormon kích thích hoàng thể Hormon thụ trước tuyến yên, điều tiết sinh sản cả nam và nữ
LIC (Liver iron concentration)	: Nồng độ sắt trong gan
MCH (Mean corpuscular Hemoglobin)	: Lượng huyết sắc tố trung bình hồng cầu
MCHC (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration)	: Nồng độ huyết sắc tố trung bình trong hồng cầu
MCV (Mean Corpuscular Volume)	: Thể tích trung bình hồng cầu
MED (Mediterranean)	: Người Địa Trung Hải
NST	: Nhiễm sắc thể
PCR (Polymerase Chain Reaction)	: Phản ứng khuếch đại chuỗi
SEA (South East Asian)	: Đông Nam Á
TIF (Thalassemia International Federation)	: Liên đoàn Thalassemia quốc tế
THAI	: Thái Lan
TSH (Thyroid - stimulating hormone)	: Hormon kích thích tuyến giáp
ULN (Upper limit of normal)	: Giới hạn trên của giá trị bình thường
WHO (World Health Organization)	: Tổ chức Y tế thế giới

ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh thalassemia (tan máu bẩm sinh) thuộc nhóm bệnh rối loạn tổng hợp huyết sắc tố, là bệnh di truyền phổ biến nhất trên thế giới với ước tính khoảng 7% dân số mang gen bệnh [1]. Nguyên nhân gây bệnh là do đột biến gen quy định tổng hợp chuỗi globin dẫn đến mất cân bằng các loại chuỗi globin, tạo nên bất thường về huyết sắc tố và thành phần các loại huyết sắc tố, dẫn tới hiện tượng vỡ hồng cầu và gây ra tình trạng thiếu máu ở bệnh nhân. Mức độ phổ biến của bệnh tùy thuộc vào từng quốc gia, từng khu vực. Theo Tổ chức Y tế Thế Giới, bệnh huyết sắc tố ảnh hưởng tới 71% số nước trên thế giới [2]. Hàng năm có khoảng 330.000 trẻ sinh ra bị bệnh (trong đó 83% là hồng cầu hình liềm và 17% là bệnh thalassemia) [2],[3]. Bệnh thalassemia liên quan đến nguồn gốc dân tộc, phân bố khắp toàn cầu song có tính địa dư rõ rệt, thường gặp ở vùng Địa Trung Hải, khu vực Trung Đông và Đông Nam Á [1],[3],[4].

Gen tổng hợp chuỗi α -globin nằm trên nhiễm sắc thể số 16, gen tổng hợp chuỗi β -globin nằm trên nhiễm sắc thể số 11 [3],[5]. Đột biến gen globin rất đa dạng và phức tạp. Việc bị mắc các đột biến khác nhau hoặc kết hợp nhiều loại đột biến trên cùng một người có thể tạo ra các kiểu hình hết sức phong phú, từ người mang gen tới người bị bệnh thể nhẹ, thể nặng hay rất nặng ...[5],[6]. Trong những năm gần đây, những phát triển vượt bậc trong lĩnh vực sinh học phân tử đã góp phần tích cực trong việc chẩn đoán các kiểu đột biến gen giúp cho công tác tư vấn, quản lý nguồn người mang gen và phòng bệnh ngày càng tốt hơn. Những kỹ thuật dựa trên nguyên lý phản ứng tổng hợp chuỗi (Polymerase Chain Reaction – PCR) ngày càng được cải tiến và được ứng dụng rộng rãi [7]. Trong đó, kỹ thuật lai phân tử dùng bộ kit α -globin Strip Assay có thể phát hiện đồng thời 21 đột biến gen α -globin hoặc bộ kit β -globin Strip Assay có thể phát hiện 22 đột biến gen β -globin phổ biến

trong khu vực, bộ kit globin Strip Assay đã và đang được sử dụng ở nhiều quốc gia [7],[8],[9].

Biểu hiện của bệnh thalassemia là thiếu máu và quá tải sắt. Theo cảnh báo của Liên đoàn thalassemia quốc tế, quá tải sắt là nguyên nhân chính gây tử vong cho bệnh nhân thalassemia (70%). Tình trạng tích lũy sắt do truyền máu nhiều lần và tăng hấp thu sắt, dẫn đến những biến chứng mang tính hệ thống ở nhiều cơ quan như tim, gan, tuyến nội tiết... ở người bệnh thalassemia [10]. Thực hiện phác đồ thải sắt có thể kiểm soát được tình trạng quá tải sắt ở bệnh nhân thalassemia [10],[11]. Để đánh giá tình trạng quá tải sắt và theo dõi hiệu quả điều trị thải sắt, định lượng nồng độ ferritin huyết thanh là phương pháp được áp dụng rất phổ biến, tuy nhiên, chỉ số này có những hạn chế là không phản ánh được chính xác lượng sắt trong tổ chức của cơ thể [10],[11],[12]. Những năm gần đây, ở nhiều nước trên thế giới đã ứng dụng kỹ thuật cộng hưởng từ (Magnetic Resonance Imaging - MRI) để đánh giá tình trạng quá tải sắt. MRI là một kỹ thuật có nhiều ưu điểm, có khả năng ứng dụng rộng rãi ở các cơ sở có máy chụp cộng hưởng từ [11],[13],[14],[15],[16].

Thalassemia là bệnh có thể phòng được và chữa được [1], việc nghiên cứu, ứng dụng các kỹ thuật tiên tiến trong chẩn đoán, theo dõi điều trị bệnh nhân là vô cùng quan trọng và cấp thiết. Chính vì lý do đó, chúng tôi thực hiện đề tài: **"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"** với hai mục tiêu:

1. *Nghiên cứu đặc điểm đột biến gen globin bằng kỹ thuật Strip Assay tại Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương giai đoạn 2013 - 2016.*
2. *Đánh giá sự thay đổi một số chỉ số quá tải sắt bằng MRI ở bệnh nhân thalassemia được điều trị thải sắt.*

CHƯƠNG 1

TỔNG QUAN

1.1. Bệnh thalassemia

1.1.1. Đặc điểm dịch tễ học bệnh thalassemia

1.1.1.1. Khái niệm

Thalassemia (còn được biết với tên “Bệnh thiếu máu vùng biển” hay “bệnh thiếu máu Cooley”) được phát hiện bởi Thomas B. Cooley vào năm 1925 [3]. Thalassemia là bệnh thiếu máu tan máu di truyền, do giảm hoặc mất hẳn sự tổng hợp của một loại chuỗi globin, tùy theo sự thiếu hụt tổng hợp chuỗi alpha (α) globin hay beta (β) globin, mà có tên gọi là α -thalassemia hay β -thalassemia [3],[5],[6].

1.1.1.2. Dịch tễ

Thalassemia là một trong những bệnh rối loạn di truyền phổ biến nhất trên thế giới, bệnh có liên quan đến nguồn gốc dân tộc. Bệnh phân bố khắp toàn cầu, song có tính địa dư, thường gặp ở vùng Địa Trung Hải, khu vực Trung Đông, Đông Nam Á và Bắc Phi [3]. Theo báo cáo của Liên đoàn thalassemia quốc tế năm 2007, số người mang gen bệnh thalassemia chiếm khoảng 7% dân số toàn cầu [1].

Ở Đông Nam Á, tỷ lệ người mang gen bệnh thalassemia rất cao. Theo Suthat Fucharoen (2011), vùng biên giới giữa các nước Thái Lan, Lào và Campuchia có tới 30 - 40% người mang gen bệnh α -thalassemia, 1 - 9% mang gen bệnh β -thalassemia; 50 - 60% mang gen bệnh HbE [4]. Tỷ lệ người mang gen thalassemia ở Quảng Đông (Trung Quốc) là 11,07% [17], ở Quảng Tây là 19,8% [18].

Ở Việt Nam, qua một số nghiên cứu từ năm 2010 đến nay cho thấy người mang gen thalassemia gặp với tỷ lệ từ 3,5 - 28% tùy từng khu vực và dân tộc [19],[20],[21].

1.1.2. Cơ chế bệnh sinh

1.1.2.1. Rối loạn tổng hợp huyết sắc tố (Hemoglobin – Hb)

Hemoglobin (Hb) là thành phần chủ yếu của hồng cầu, chiếm 28% trọng lượng của hồng cầu, tương ứng 14,6 g trong 100 ml máu toàn phần. Mỗi phân tử Hb có 4 tiểu đơn vị, mỗi tiểu đơn vị gồm một chuỗi globin và nhân hem (một sắc tố chứa sắt hóa trị (Fe^{+2})). Có nhiều loại globin, thuộc hai họ (họ alpha và không alpha), mỗi loại có số lượng và trình tự các acid amin đặc trưng, các chuỗi họ alpha (α) là: α và zeta (ξ), mỗi chuỗi α -globin có 141 acid amin và có cấu trúc gần giống nhau; các chuỗi họ không α -globin là: beta (β), delta (δ), gamma (γ) và epsilon (ϵ). Mỗi chuỗi không α -globin có 146 axit amin. Mỗi phân tử Hb bình thường được tạo bởi hai chuỗi họ α -globin và hai chuỗi không α -globin với tỷ lệ cân bằng. Có nhiều loại Hb khác nhau do được tạo nên từ các chuỗi globin khác nhau, có khả năng gắn kết và vận chuyển oxy khác nhau tùy theo giai đoạn trưởng thành của cơ thể [3],[6],[22],[23].

Sự tổng hợp chuỗi globin là do gen α -globin và không α -globin quy định, tổn thương các gen này sẽ làm giảm hoặc mất tổng hợp chuỗi globin. Tổn thương gen α -globin làm giảm hoặc mất tổng hợp chuỗi α -globin dẫn đến thừa các chuỗi không α (là chuỗi γ và β -globin), các chuỗi thừa này trùng hợp với nhau tạo Hb bất thường là Hb Bart's (γ_4) và HbH (β_4). Tổn thương gen β -globin làm giảm hoặc mất tổng hợp chuỗi β -globin, bên cạnh đó, sự tăng hoạt động trở lại của gen γ -globin và tăng hoạt động gen δ -globin (ở trẻ sau khi ra đời). Các chuỗi này khi kết hợp với chuỗi α -globin tạo HbF ($\alpha_2\gamma_2$), HbA2 ($\alpha_2\delta_2$). Khả năng vận chuyển oxy của các Hb bất thường rất kém dẫn đến thiếu oxy tại tổ chức [3],[5],[6],[10].

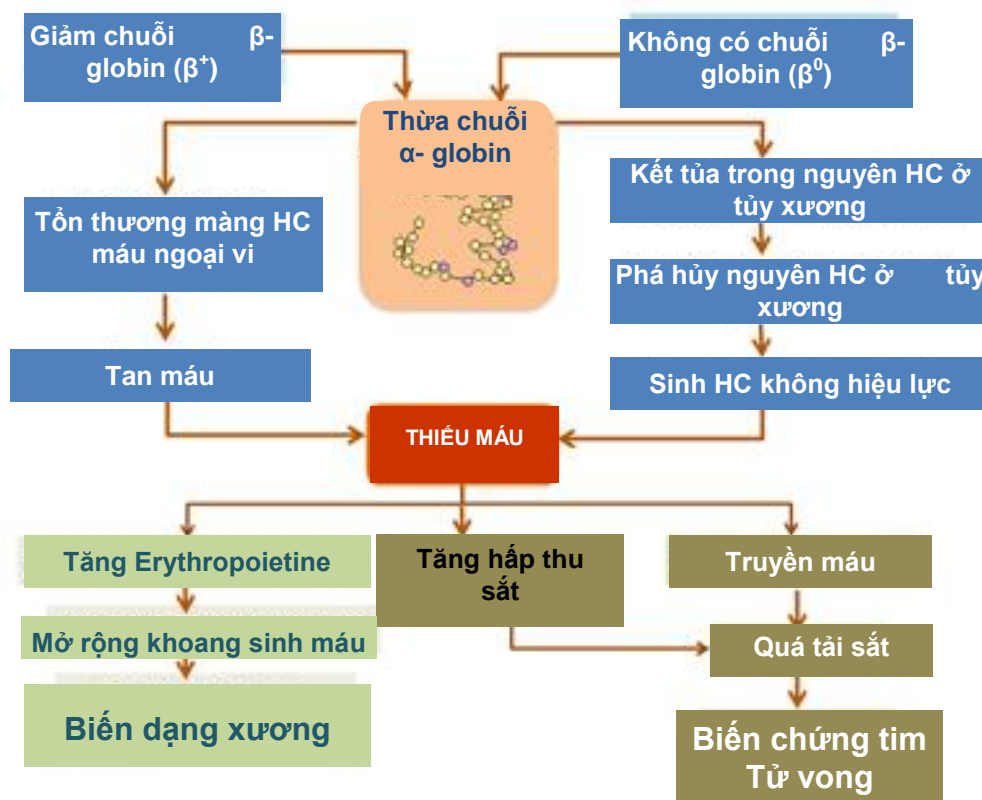
1.1.2.2. Sinh hồng cầu không hiệu lực.

Giảm tổng hợp chuỗi α -globin sẽ làm thừa chuỗi β -globin và ngược lại. Các chuỗi globin thừa lắng đọng trên màng hồng cầu làm tổn thương và gây vỡ hồng

cầu. Chuỗi α -globin tự nó không thể tạo thành một phân tử huyết sắc tố hoàn chỉnh, do đó nó bị kết tủa tạo thành thể vùi trong các tế bào tiền thân dòng hồng cầu trong giai đoạn tổng hợp huyết sắc tố. Những thể vùi lớn làm phá huỷ nguyên hồng cầu, gây ra sinh hồng cầu không hiệu lực trong tất cả các thể β -thalassemia. Trong β -thalassemia thể nặng, phần lớn các tế bào đầu dòng hồng cầu bị phá huỷ ngay khi còn ở trong tuỷ xương [3],[10].

1.1.2.3. Tan máu

Chuỗi globin tự do kết hợp với protein màng hồng cầu làm thay đổi cấu trúc và chức năng màng hồng cầu làm hồng cầu dễ bị đại thực bào bắt giữ ở hệ liên võng. Sự thoái giáng các chuỗi α -globin, ϵ -globin tự do, hem, hemin (dạng oxy hoá của heme) và ion sắt tự do cũng đóng vai trò quan trọng trong phá huỷ màng hồng cầu [3],[10].



Hình 1.1. Cơ chế bệnh sinh của β -thalassemia [10]

Triệu chứng chính của bệnh thalassemia là hội chứng thiếu máu và tan máu mạn tính, do vậy nếu không được truyền máu sớm và định kỳ, bệnh nhân sẽ bị biến chứng biến dạng xương do tình trạng tăng sinh tạo máu quá mức. Bên cạnh đó, do cơ thể tăng hấp thu sắt và việc đưa một lượng lớn sắt vào cơ thể qua truyền máu đã gây nên tình trạng quá tải sắt ở bệnh nhân thalassemia [11].

1.1.3. Chẩn đoán, phân loại bệnh thalassemia

Biểu hiện của thalassemia rất đa dạng do sự đa dạng về di truyền mà tùy theo số lượng đột biến, kiểu đột biến, sự phối hợp các đột biến mà có nhiều mức độ biểu hiện bệnh khác nhau từ thể ẩn (không có biểu hiện lâm sàng) đến mức độ rất nặng (tử vong từ trong bào thai). Hiện nay có nhiều cách thức phân loại bệnh thalassemia dựa vào lâm sàng, xét nghiệm và phương pháp điều trị [10],[11],[12],[24].

1.1.4. Điều trị bệnh thalassemia

❖ Truyền máu:

- Thể bệnh thalassemia phụ thuộc truyền máu: bệnh nhân nên được truyền máu sớm, khi xét nghiệm Hb < 70 g/l trong 2 lần liên tiếp, truyền định kỳ 2 – 5 tuần/đợt để duy trì Hb trước truyền là 90 - 105 g/l. Thể tích mỗi đợt truyền 10 - 15 ml/kg [11].
- Thể bệnh thalassemia không phụ thuộc truyền máu: Bệnh nhân chỉ nên được truyền máu định kỳ khi có các dấu hiệu: Chậm phát triển thể chất, mệt mỏi nhiều, chậm dậy thì, biến dạng xương, lách to thêm 3 cm/năm (ở người trưởng thành) [12].

❖ Thải sắt:

- Xem xét điều trị thải sắt sớm khi có các tiêu chuẩn sau:
 - Bệnh nhân đã nhận ≥ 10 đơn vị khối hồng cầu;

- Ferritin huyết thanh ≥ 500 ng/ml và bệnh nhân tiếp tục phải thường xuyên truyền máu ...;
 - Ferritin huyết thanh ≥ 800 ng/ml;
 - Nồng độ sắt trong gan (Liver Iron Concentration - LIC) ≥ 5 mg/g.
- Ngừng điều trị thải sắt khi ferritin < 300 ng/ml hoặc LIC < 3 mg/g [11].
- ❖ *Cắt lách*: Chỉ cắt lách khi có 1 trong các dấu hiệu sau:
- Bệnh nhân tăng nhu cầu truyền máu (> 200 ml/kg/năm) mà không kèm các nguyên nhân khác có thể làm giảm Hb;
 - Tăng tình trạng quá sắt (dù vẫn đang thải sắt theo phác đồ);
 - Lách quá to gây cản trở sinh hoạt hàng ngày hoặc gây đau cho người bệnh;
 - Giảm bạch cầu hoặc tiểu cầu do cường lách [11].
- ❖ *Thuốc kích thích tổng hợp HbF*: với β -thalassemia mức độ trung bình [12].
- ❖ *Ghép tế bào gốc tạo máu đồng loài*: đối với thalassemia mức độ nặng [11].
- ❖ *Gen trị liệu*: đang tiếp tục nghiên cứu [10],[11],[12].

1.2. Đột biến gen globin và các phương pháp phát hiện

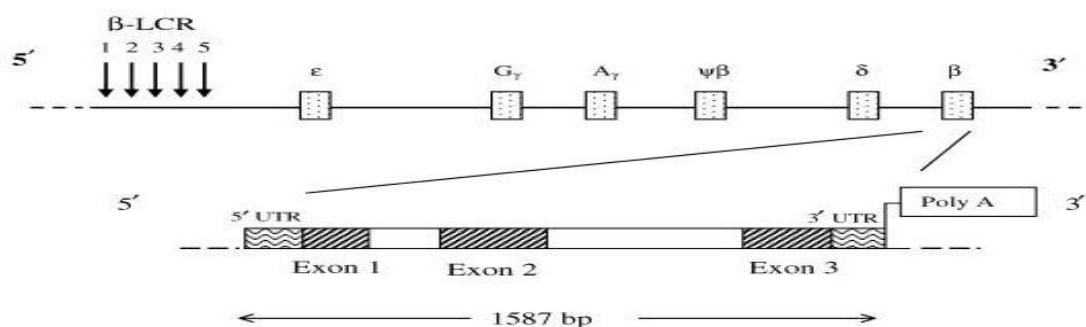
1.2.1. Gen globin và các đột biến

Gen globin có kích thước nhỏ, gồm có 3 exon và 2 intron. Sự thay đổi biểu hiện gen globin được kiểm soát thông qua hoạt động của các vùng khởi động (promoter), tăng cường (enhancer) và bất hoạt (silencer) trên mỗi gen globin và ở các vùng trình tự điều khiển cụm gen [29],[30],[31],[32].

Giống như các gen khác, gen globin sở hữu một loạt vị trí biểu hiện đặc hiệu như: vị trí CAP - vị trí bắt đầu phiên mã, ATG - bộ ba (codon) mở đầu để bắt đầu phiên mã mRNA (Messenger Acid Ribonucleic); bộ ba xen giữa làm gián đoạn quá trình phiên mã; tín hiệu bổ sung đuôi poly (A) vào mRNA. Tầm quan trọng của trật tự các nucleotit là yếu tố quyết định loại Hb, bất kỳ sự thay đổi nào như mất, thêm, thay đổi nucleotit trên gen globin đều tạo ra

bất thường mRNA từ đó gây nên các dạng bất thường của thalassemia ở mức độ sinh học phân tử [29],[30],[31],[32].

1.2.1.1. Gen β -globin và đột biến gen β -globin



Hình 1.2. Cấu trúc gen β -globin

Họ gen β -globin nằm trên cánh ngắn nhiễm sắc thể 11 (11p15.5) có độ dài 60 kilobases (kb) gồm có 5 gen chức năng, sắp xếp theo trật tự từ trái sang phải là ϵ / γ G / γ A / δ / β (hình 1.2). Gen β -globin có 626 base pair (bp) tham gia mã hóa nằm trên 3 exon là exon 1 (142 bp), exon 2 (223 bp) và exon 3 (261 bp). Độ dài intron 1 là 130 bp và intron 2 là 850 bp. Gen β -globin có cơ chế điều hòa rất phức tạp, hoạt động ở mức độ đơn gen cũng như toàn bộ cụm gen [3],[6],[22],[30].

Đột biến gen β -globin bao gồm:

β^0 -thalassemia là các đột biến làm mất chức năng gen β -globin nên không tổng hợp được chuỗi β -globin, ví dụ như: đột biến làm tạo thành bộ ba kết thúc sớm như Cd17, Cd35, ...

β^+ -thalassemia là các đột biến làm giảm chức năng gen β -globin nên giảm tổng hợp chuỗi β -globin ở nhiều mức độ khác nhau, ví dụ như đột biến ở vùng khởi động: -28, -88, ...

Các biến thể Hb là đột biến điểm làm thay đổi một acid amin, dẫn đến tổng hợp nên các biến thể chuỗi β globin khác tạo Hb bất thường như HbE, HbCs, HbS, ...

Hiện nay đã phát hiện trên 200 đột biến gen β -globin, chủ yếu là đột biến không mất đoạn. Đột biến tại gen β -globin chiếm trên 75% các đột biến trong cụm gen không α -globin. Các đột biến mang tính đặc trưng và phân bố khác nhau ở các vùng miền, dân tộc [5],[6],[30],[31]. Liên đoàn Thalassemia quốc tế đã tổng hợp các kiểu gen, kiểu hình của các đột biến và tính phổ biến của đột biến theo quần thể dân tộc, vùng miền (tại phụ lục số 2).

Cơ chế một số dạng đột biến thường gặp của gen β -globin:

- Đột biến điểm tại vùng khởi động (promoter): đột biến thay thế nucleotit tại vị trí TATA hoặc CACCC dẫn đến giảm tổng hợp chuỗi β -globin so với bình thường, gây β^+ -thalassemia, như đột biến: -90 (C > T), -88 (C > T), -28 (A > G), [3],[22],[30],[33].

- Những đột biến vô nghĩa (nonsense mutations): sự thay thế một nucleotit trong exon có thể dẫn đến sự tạo thành một trong ba mã kết thúc (UAA, UAG hoặc UGA) làm cho việc dịch mã kết thúc sớm hơn so với bình thường và tạo sản phẩm β -globin không vững bền bị phá hủy ngay trong tế bào, gây bệnh β^0 -thalassemia như Cd17 (AAG > TAG), Cd35 (TAC > TAA) [3],[22],[31],[33].

- Đột biến tại những trình tự tín hiệu nối (splicing signals): Những đột biến ở vị trí cho nối GT hoặc vị trí nhận nối AG của intron gây cản trở việc nối exon, do đó không tạo được mARN β -globin nên gây β^0 -thalassemia như IVS1-1 (G > T) [30],[31],[33].

- Những đột biến tại vị trí 5, 6 của intron dẫn tới giảm khả năng nối ARN chính xác nhưng còn tổng hợp được chuỗi β -globin gây bệnh β^+ -thalassemia như IVS1-5 (G > T), IVS1-6 (T > C) [30],[31],[33].

- Đột biến ở trong các exon: các đột biến ở exon luôn tạo ra các bất thường bản sao mARN nên gây ra β^+ -thalassemia như Cd26 (GAG > AAG) tạo HbE [30],[31],[33].

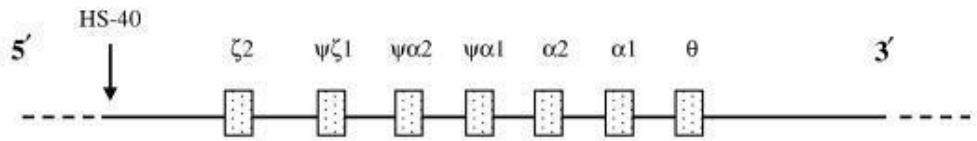
- Đột biến tại vị trí gắn đuôi poly A: vị trí AATAAA tại vùng không dịch mã là vị trí gắn poly Adenin cần thiết cho mRNA di chuyển từ nhân ra tế bào chất để tham gia vào quá trình dịch mã tạo sản phẩm protein. Các đột biến điểm xảy ra tại vị trí AATAAA sẽ gây β^+ -thalassemia, như: AATAAA \rightarrow AATGAA, AATAAA \rightarrow CATAAA [30],[31],[33].

- Những đột biến khung đọc xảy ra ở các exon: đột biến thêm vào hoặc mất đi một hoặc vài nucleotit, hoặc một đoạn có dẫn đến thay đổi khung đọc mã di truyền làm thay đổi sản phẩm β -globin, như đột biến: Cd8/9 (+G), Cd41/42 (-TTCT), Cd71/72 (+A) gây β^0 -thalassemia [30],[31],[33].

Bảng 1.1. Các đột biến gây bệnh β -thalassemia thường gặp ở người Việt Nam [34],[35],[36]

STT	Vị trí đột biến	Kiểu đột biến	Kiểu gen
1	Vùng khởi động	-28 (A > G)	β^+
2	Vùng kết nối trên intron I	IVS1-1 (G > T)	β^0
3	Vùng kết nối trên intron I	IVS1-5 (G > C)	β^+
4	Vùng kết nối trên intron II	IVS2-654	β^0/β^+
5	Đột biến vị trí cắt ẩn trên exon 1	Cd26 (GAG > AAG) (Glu > Lys, HbE)	β^+
6	Đột biến vô nghĩa	Cd17 (AAG > TAG)	β^0
7	Đột biến khung đọc trên exon 2	Cd41/42 (-TTCT)	β^0
8	Đột biến khung đọc	Cd71/72 (+ A)	β^+
9	Đột biến khung đọc	Cd95 (+ A)	β^+

1.2.1.2. Gen α -globin và đột biến gen α -globin



Hình 1.3. Cấu trúc gen α -globin

Họ gen α -globin nằm trên cánh ngắn nhiễm sắc thể 16 (16p13.3) gồm 3 gen chức năng là ζ , $\alpha 1$, $\alpha 2$ và 4 gen giả là $\Psi\zeta 1$, $\Psi\alpha 1$, $\Psi\alpha 2$, θ (hình 1.3). Gen $\alpha 1$ có chiều dài 840 bp và gen $\alpha 2$ có chiều dài 830 bp. Số lượng chuỗi α -globin được tổng hợp phụ thuộc vào số gen α -globin hoạt động [3],[6],[29]. Mức độ phiên mã của gen $\alpha 2$ gấp 2 đến 3 lần so với gen $\alpha 1$ [31],[37],[38].

Khoảng 40 kb phía trước của cụm gen α globin là một khu vực được gọi là HS-40. Khu vực này có nhiều vị trí nhạy cảm với ADNase và liên quan đến các yếu tố phiên mã. Tính toàn vẹn của HS-40 là rất cần thiết cho sự hoạt động của gen α -globin, nếu bị mất một đoạn trong phần đó có thể làm cả đoạn gen α -globin sau đó không hoạt động được. Ngoài cấu trúc gen và trình tự của gen α -globin, còn có một số yếu tố phiên mã gen cũng rất quan trọng. Các yếu tố điều hòa hoạt động gen α -globin bằng cách gắn vào promoter gen α -globin và/hoặc với vị trí tương tác protein gắn ADN tại vùng HS-40 hoặc cấu trúc nhiễm sắc thể (ví dụ như gen ATRX trên nhiễm sắc thể 13) [29]. Vì thế, những trường hợp mất đoạn vùng HS-40 cũng gây ra α -thalassemia, trong khi cả 2 gen α -globin đều còn nguyên vẹn [29],[31].

Đột biến gây α -thalassemia

Đột biến gây bệnh α -thalassemia bao gồm đột biến mất đoạn và đột biến điểm. Đột biến mất đoạn có 2 dạng là đột biến đoạn lớn làm mất cả 2 gen α và

đột biến đoạn nhỏ làm mất 1 gen α . Hiện nay đã phát hiện được trên 300 đột biến, trong đó đột biến mất đoạn là chủ yếu (khoảng 90%) [29],[39].

a) Đột biến α^+ -thalassemia: là đột biến làm mất 1 gen α -globin trên 1 nhiễm sắc thể (kiểu gen: $-\alpha$). Có một số kiểu đột biến α^+ -thalassemia, trong đó phổ biến nhất là đột biến mất đoạn 3.7 kb ($-\alpha^{3.7}$) và 4.2 kb ($-\alpha^{4.2}$) [3],[4],[29].

b) Đột biến α^0 -thalassemia: là đột biến mất cả 2 gen α trên 1 nhiễm sắc thể (kiểu gen: $--$). Hiện nay đã xác định được khoảng 50 loại đột biến mất đoạn 2 gen globin gồm mất 1 phần gen trên cả 2 gen α , mất hoàn toàn cả 2 gen α hoặc mất cả 2 gen α và gen ζ làm mất hoàn toàn quá trình tổng hợp chuỗi α -globin [29]. Phổ biến các đột biến α^0 -thalassemia ở khu vực Đông Nam Á là $--^{SEA}$, $--^{THAI}$, $--^{FIL}$, ở khu vực Địa Trung Hải là $--^{MED}$. Đồng hợp tử các đột biến α^0 -thalassemia gây Hb Bart's, dị hợp tử α^0 -thalassemia với α^+ -thalassemia gây ra HbH [29],[31].

c) Đột biến không mất đoạn: là các đột biến tại 1 hoặc vài nucleotit làm tổng hợp ra các biến thể chuỗi α -globin (kiểu gen: $\alpha^T\alpha$ hoặc $\alpha\alpha^T$). Các đột biến điểm chủ yếu ở trong vùng HS-40 và trong gen $\alpha 1$, $\alpha 2$. Hiện nay người ta đã xác định được 69 đột biến điểm liên quan đến biểu hiện của gen α [29]. Điển hình trong nhóm đột biến điểm là đột biến thay thế T thành C ở bộ 3 kết thúc làm bộ 3 kết thúc dịch mã từ TAA chuyển thành CAA (mã hóa cho acid amin glutamin) vì vậy ribosom tiếp tục dịch mã đến khi nó chạm vào mã kết thúc tiếp theo trong khung đọc. Kết quả 1 chuỗi α -globin bị kéo dài thêm 31 acid amin so với phân tử 141 acid amin của chuỗi α -globin ban đầu tạo nên Hb Constant Spring (HbCs), đây là đột biến điểm phổ biến nhất ở Đông Nam Á (chiếm khoảng 4% các đột biến α -globin) [29],[31]. Ngoài ra, còn có các đột biến khác làm tổng hợp các protein bất thường như đột biến $\alpha 2$ codon 125 (T > C) tạo Hb Quang Sze (Qs), đột biến $\alpha 2$ codon 142 (A > T) tạo Hb Pakse cũng gặp ở người Đông Nam Á [29],[31].

1.2.2. Các phương pháp xác định đột biến gen globin thông dụng

Hiện nay có nhiều phương pháp dựa trên kỹ thuật PCR được sử dụng để phát hiện đột biến gen globin. Mỗi phương pháp có ưu nhược điểm khác nhau trong phát hiện các loại đột biến, việc lựa chọn phương pháp nào là tùy thuộc vào các phòng xét nghiệm [7].

1.2.2.1. Phương pháp PCR cách đoạn (Gap-PCR)

Nguyên lý kỹ thuật: Kỹ thuật Gap-PCR sử dụng 1 môi xuôi và 1 môi ngược gắn ở hai bên ranh giới của vùng ADN đứt gãy. Với alen bình thường, khoảng cách giữa 2 môi quá lớn nên không hình thành được sản phẩm ADN. Với alen có đột biến, khoảng cách này đủ ngắn để 2 môi tạo nên đoạn ADN sản phẩm. Các sản phẩm PCR được điện di và so sánh kích thước với thang chuẩn ADN và các băng của chứng dương để xác định đột biến của mẫu.

Ưu điểm: Kỹ thuật đơn giản, nhanh, chi phí thấp. Có thể sử dụng đồng thời nhiều cặp môi (Multiplex gap – PCR) để chẩn đoán đồng thời nhiều đột biến.

Nhược điểm: Chỉ phát hiện được những đột biến mất đoạn đã biết trước trình tự vùng ADN đứt gãy.

Ứng dụng: để chẩn đoán các đột biến mất đoạn α -thalassemia như đột biến: --^{SEA}, --^{THAI}, --^{MED}, --^{20.5}, --^{FIL}, - α ^{3.7}, - α ^{4.2} và một vài mất đoạn β thalassemia như $\delta\beta$ -thalassemia, HPFH, ... [7].

1.2.2.2. Kỹ thuật khuếch đại nhiều đoạn đầu dò phụ thuộc kết nối (Multiplex ligation dependent probe amplification – MLPA):

Nguyên lý: Kỹ thuật này sử dụng các đoạn dò (probe) có khả năng lai với phân tử ADN đích đặc hiệu. Mỗi probe gồm 2 chuỗi oligonucleotide có kích thước khác nhau (đoạn dò xuôi và đoạn dò ngược). Các probe sẽ gắn đặc hiệu vào phân tử ADN đích, sau đó enzyme ligase được thêm vào để nối hai

đoạn dò này lại với nhau tạo thành đoạn dò hoàn chỉnh và được khuếch đại bằng phản ứng PCR với cặp mồi đặc hiệu được đánh dấu huỳnh quang. Đoạn đệm được thiết kế dài ngắn khác nhau nên khi phản ứng PCR khuếch đại sẽ tạo ra nhiều đoạn ADN có chiều dài khác nhau và được phân tách bằng điện di mao quản. Nếu gen có đột biến mất đoạn thì không có hiện tượng lai probe và probe đó sẽ không được khuếch đại. Nếu gen có đột biến lặp đoạn, kết quả trên hình ảnh điện di mao quản cho thấy đỉnh tín hiệu của probe tương ứng với vùng bị đột biến sẽ tăng cao so với bình thường.

Ưu điểm: xác định được tất cả các đột biến mất đoạn, lặp đoạn đã biết và chưa biết trên cụm gen α -globin và β -globin.

Nhược điểm: Chi phí cao, kỹ thuật phức tạp.

Ứng dụng: Kỹ thuật MLPA được dùng để chẩn đoán các đột biến mất đoạn, lặp đoạn trong α -thalassemia và β -thalassemia [7].

1.2.2.3. Kỹ thuật dùng enzyme cắt giới hạn (*Restriction endonuclease - RE*):

Nguyên lý: Đoạn ADN muốn khảo sát sau khi được khuếch đại bằng PCR sẽ được cắt tại các vị trí đặc hiệu bằng các enzyme cắt giới hạn. Các vị trí cắt trên ADN có thể thay đổi tùy thuộc sự hiện diện của đột biến tạo các đoạn ADN có kích thước khác nhau và được phát hiện bằng điện di.

Ưu điểm: Kỹ thuật đơn giản, nhanh chóng, có độ tin cậy cao.

Nhược điểm: Chỉ chẩn đoán được các đột biến điểm đã biết ...

Ứng dụng: Để chẩn đoán các đột biến điểm như đột biến HbCs, HbS...[7].

1.2.2.4. Kỹ thuật khuếch đại alen đặc hiệu ARMS-PCR

Nguyên lý: Dựa trên đặc tính bổ sung nucleotit không tương hỗ ở đầu 3' sẽ ngăn chặn sự kéo dài của mồi làm phản ứng PCR không thể xảy ra. Để xác định một đột biến cụ thể, cần thiết kế 2 đoạn mồi đặc hiệu cho ADN bình thường và 1 mồi đặc hiệu với ADN có đột biến. Mồi bình thường sẽ không

gắn vào đoạn ADN có đột biến và mỗi đột biến sẽ không gắn vào đoạn ADN bình thường. Các sản phẩm PCR được điện di và so sánh kích thước với thang chuẩn ADN và các băng của chứng dương để xác định đột biến của mẫu.

Ưu điểm: phương pháp đơn giản, chi phí thấp. Có thể phát hiện được nhiều đột biến cùng lúc.

Nhược điểm: Chỉ chẩn đoán được các đột biến điểm đã biết. Các đoạn mỗi suy biến có thể gắn vào các vị trí khác trong hệ gen và tạo ra những sản phẩm không đặc hiệu [7].

Ứng dụng: Để chẩn đoán các đột biến điểm gây β -thalassemia [7].

1.2.2.5. Phương pháp lai ngược (Reverse Dot Blot)

Nguyên lý: Trong kỹ thuật lai ngược, các cặp đầu dò (probes) được gắn cố định lên màng. Mỗi cặp đầu dò gồm một oligonucleotit bình thường và một oligonucleotit đột biến. Với mỗi xét nghiệm, các sản phẩm ADN lai với các đầu dò đặc hiệu đã cố định sẵn trên màng lai, cho phép phát hiện đồng thời nhiều đột biến [7].

Ưu điểm: phương pháp đơn giản, chi phí thấp. Có thể phát hiện được nhiều đột biến cùng lúc.

Nhược điểm: Cần có trình độ cao để tạo lập và đánh giá chất lượng của bộ kit.

Ứng dụng: Phương pháp này thường được ứng dụng để phát hiện đột biến điểm [7].

1.2.2.6. Kỹ thuật lai phân tử (Reverse hybridization - kit Strip Assay)

Nguyên lý: Là phương pháp kết hợp của kỹ thuật Multiplex PCR và lai ADN ngược (Reverse hybridization), sử dụng thanh test strip có dính nhiều đầu dò để phát hiện đồng thời nhiều đột biến và xác định tính đồng hợp/ dị hợp tử của đột biến. Các đầu dò đặc hiệu (Alen specific oligonucleotit –ASO probes) cho alen bình thường và đầu dò cho alen đột biến được gắn cố định

trên các dải nitrocellulose có màng nilon. Sản phẩm ADN được đánh dấu bằng biotin-16-dUTP trong phản ứng khuếch đại (PCR). Các sản phẩm này được lai với các đầu dò đặc hiệu alen đột biến (mutant) và alen bình thường (wild type). Sau khi rửa, sản phẩm lai đặc hiệu ở trên các băng vạch của thanh test strip có thể được phát hiện bằng mắt thường.

Kit Strip Assay (ViennaLab, Áo) có bộ kit α -globin Strip Assay cho phép sàng lọc được 21 đột biến α -thalassemia và bộ kit β -globin Strip Assay cho phép sàng lọc được 22 đột biến β -thalassemia phổ biến trong khu vực Đông Nam Á. Những bộ kit này đạt tiêu chuẩn chứng nhận IVD (In Vitro Diagnostics) cho chẩn đoán bệnh được phép lưu hành tại Châu Âu và đã được sử dụng ở nhiều nước trên thế giới như Malaysia, Iran, Iraq, Thổ Nhĩ Kỳ, Ai cập [9],[40],[41],[42].

Ưu điểm: Dễ thực hiện, có thể cùng lúc phát hiện được nhiều đột biến điểm, đột biến mất đoạn, xác định được các đột biến đồng hợp tử hay dị hợp tử. Thời gian nhanh chóng (6 - 8 giờ). Lượng mẫu cần ít (10 – 50 ng ADN cho 1 phản ứng PCR duy nhất). Phương tiện máy móc đơn giản. Phân tích kết quả đơn giản từ các băng vạch trên thanh phản ứng bằng mắt thường hoặc qua máy đọc tự động. Độ chính xác cao [7],[9],[41].

Nhược điểm: chi phí cao. Chỉ xác định được những đột biến đã biết được xây dựng trong bộ kit.

Ứng dụng: Để phát hiện các đột biến mất đoạn và đột biến điểm trong α -thalassemia và β -thalassemia.

1.2.2.7. Kỹ thuật phân tích giải trình tự gen theo nguyên lý Sanger (Sanger sequencing)

Phương pháp giải trình tự gen Sanger có khả năng phân tích đoạn ADN trên 1 kb, tất cả các đột biến điểm hay đa hình ADN đều có thể được xác

định. Do vậy, phương pháp này thường được áp dụng để xác định các đột biến hiếm hoặc trường hợp nghi ngờ mà âm tính với các kỹ thuật khác.

Nguyên lý: Kỹ thuật này dựa trên phương pháp enzyme và trên nền tảng kỹ thuật PCR. Chuỗi ADN mới được kéo dài bởi ADN polymerase khi có mặt của các dNTP và môi. Phản ứng này được làm ngừng bằng cách bổ sung ddNTP. Tùy theo ddNTP là gì mà phản ứng sẽ bị ngừng tại vị trí có ddNTP đưa vào. Hỗn hợp phản ứng thu được sẽ chứa tập hợp tất cả các đoạn ADN kích thước chênh lệch nhau 1 nucleotit [7],[9].

Ưu điểm: có thể xác định được tất cả các đột biến.

Nhược điểm: Chi phí cao.

Ứng dụng: Để chẩn đoán các đột biến hiếm gặp.

1.2.3. Các nghiên cứu xác định đột biến gen globin

Việt Nam đã ứng dụng các kỹ thuật sinh học phân tử để xác định các đột biến gen globin từ những năm 2000 [43],[44]. Hiện nay, nhiều cơ sở lớn trên toàn quốc đã ứng dụng các kỹ thuật này để chẩn đoán bệnh thalassemia cho người bệnh, người mang gen và chẩn đoán trước sinh, điển hình như:

Tác giả Nguyễn Khắc Hân Hoan và cộng sự đã sàng lọc bệnh thalassemia cho 1818 người là bố mẹ thai nhi có nguy cơ cao mang gen bệnh thalassemia và chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia cho 495 thai nhi từ năm 2008 đến 2013 bằng các phương pháp Gap PCR, multiplex Gap-PCR enzyme cắt giới hạn, ARMS, MLPA và giải trình tự đoạn gen. Kết quả phát hiện được 71,4% thai có mang đột biến gen globin. Các đột biến hay gặp nhất là --^{SEA}, - $\alpha^{3.7}$, HbE, Cd41/42, Cd17 [45].

Tác giả Ngô Diễm Ngọc và cộng sự đã xét nghiệm chẩn đoán cho 515 cặp vợ chồng có nguy cơ cao sinh con bị bệnh thalassemia và chẩn đoán trước sinh cho 311 thai nhi từ năm 2012 đến 2015, áp dụng kỹ thuật ARMS-PCR để

phát hiện 9 đột biến bệnh β thalassemia và kỹ thuật GAP-PCR để phát hiện 7 đột biến bệnh α -thalassemia thường gặp ở Đông Nam Á. Kết quả đã phát hiện 91 thai bệnh trong đó 31 thai Hb Bart's, 52 thai bị β thalassemia mức độ nặng và 8 thai bị α -thalassemia (HbH) [46].

Tác giả Lê Phương Thảo đã tiến hành chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia trên 92 mẫu tế bào ối bằng Strip Assay và đã phát hiện 3 kiểu đột biến gen α -globin là $--^{SEA}$, $--^{20.5}$, $-\alpha^{3.7}$, 16 trường hợp Hb Bart's ($--^{SEA}/--^{SEA}$), đột biến gen β -globin gồm 6 đột biến Cd17, Cd41/42, Cd26, IVS1-1, Cd95, Cd71/72, trong đó có 3 trường hợp dị hợp tử kép [47].

Trên thế giới, globin Strip Assay đã được ứng dụng khá phổ biến, cụ thể như:

Tác giả Syahzuwan Hassan và cộng sự ở Malaysia (năm 2012) đã nghiên cứu so sánh phương pháp xác định đột biến bằng 6 panel Multi ARMS-PCR gồm 9 đột biến và giải trình tự (mini sequencing) với kỹ thuật sử dụng kit β -globin Strip Assay-SEA (22 đột biến Đông Nam Á) trên 208 bệnh nhân và người mang gen β -thalassemia. Kết quả, đã phát hiện trong tổng số 169 alen đột biến có 15 loại đột biến, trong đó 4 đột biến phổ biến chiếm 78% gồm IVS1-5 (G > C) (23,1%), Cd26 (G > A) HbE (23,1%), Cd41/42 (-TTCT) (16%) và IVS1-1 (G > T) (16%). Bộ kit β -globin Strip Assay có thể phát hiện được 13/15 loại đột biến. Bộ kit β -globin Strip Assay không phát hiện được 2 đột biến là IVS1-1(G > A) và Poly A, 2 loại đột biến này có tỷ lệ thấp (chiếm 3,55%) [40].

Tác giả Menon và cộng sự (năm 2015) đã so sánh khả năng phát hiện đột biến gen β -globin bằng bộ kit β -globin Strip Assay với phương pháp ARMS-PCR đang được thực hiện tại trung tâm nghiên cứu phát triển y sinh học, trường đại học y Gulf, Tiểu vương quốc Ả rập thống nhất cho thấy bộ kit β -globin Strip Assay với 22 đột biến có thể phát hiện được 93,7% các trường

hợp, tốt hơn rõ rệt so với phương pháp ARMS-PCR của cơ sở này với 6 đột biến chỉ phát hiện được 66,7% các trường hợp có đột biến gen β -globin [41].

Tác giả Helene Puehringer và cộng sự đã nghiên cứu kiểm chứng bộ kit Strip Assay để xác định các đột biến α -thalassemia (đã biết trước) trên 272 mẫu tại 8 trung tâm, kết quả đã phát hiện được 96,14% đột biến chính xác, 3,86% đột biến không xác định được là do nằm ngoài 21 đột biến trên thanh strip [9].

Như vậy, các kỹ thuật trong lĩnh vực sinh học phân tử ngày càng đa dạng, hướng tới sự chính xác và thuận lợi cho việc ứng dụng để chẩn đoán lâm sàng. Hiện nay, Việt Nam đã cập nhật ứng dụng các kỹ thuật xét nghiệm tiên tiến, sánh ngang với nước phát triển trên thế giới.

1.3. Quá tải sắt ở bệnh nhân thalassemia và phương pháp đánh giá

1.3.1. Phân bố sắt ở người bình thường:

Sắt là một yếu tố vi lượng có vai trò quan trọng bậc nhất trong cơ thể. Sắt rất cần thiết yếu cho hoạt động của nhiều loại protein đồng thời tham gia vào các phản ứng oxi hóa khử, kiểm soát quá trình sản xuất năng lượng, hô hấp của ty lạp thể và tổng hợp ADN [48]. Tổng lượng sắt trong cơ thể bằng 0,008% trọng lượng cơ thể [48],[49].

Bảng 1.2. Sự phân bố sắt trong cơ thể người [48]

Khu vực	Nam (mg Fe/kg)	Nữ (mg Fe/kg)
<i>Chức năng</i>		
Hemoglobin	31	28
Myoglobin	5	4
Các enzyme	2	2
<i>Dự trữ</i>		
Ferritin và hemosiderin	12	6
<i>Vận chuyển</i>		
Transferrin	< 1 (0,2)	< 1 (0,2)
Tổng cộng	50	40

Trong cơ thể, sắt được phân bố thành 3 khu vực: chức năng, vận chuyển và dự trữ (bảng 1.2).

1.3.1.1. Khu vực chức năng

Khoảng 2/3 lượng sắt trong cơ thể ở trong khu vực chức năng, chủ yếu trong hemoglobin. Một g hemoglobin chứa 3,3 mg sắt, một ml khối hồng cầu đậm đặc có một mg sắt [50]. Lượng sắt trong myoglobin rất thấp nhưng có trong tất cả các tế bào cơ xương và tim. Một lượng rất nhỏ sắt chức năng (6-8 mg) ở trong cytochrome và enzyme, đặc biệt có trong enzyme ribonucleotit reductase, do đó sắt có vai trò trong quá trình chuyển hoá của mọi tế bào [51].

1.3.1.2. Khu vực vận chuyển

Sắt trong khu vực vận chuyển chiếm khoảng 0,1% lượng sắt của cơ thể. Trong huyết tương, sắt được vận chuyển dưới dạng Fe^{3+} gắn với transferrin (Tf). Lượng sắt vận chuyển thường xuyên được quay vòng, ít nhất 10 lần mỗi ngày, đây là con đường chung để trao đổi sắt giữa các khu vực. Vai trò của transferrin là hoà tan và gắn với Fe^{3+} ở dạng sinh lý (tránh để sắt ở dạng tự do) và vận chuyển cung cấp sắt cho tế bào thông qua các thụ thể gắn sắt (transferrin receptor 1 và 2 - TfR1 và TfR2) [49],[51].

1.3.1.3. Khu vực dự trữ

Khoảng 30% lượng sắt của cơ thể ở dạng dự trữ, trong đó 60% ở gan và 40% ở hệ võng nội mô [52]. Tại gan, trên 95% sắt dưới dạng ferritin trong tế bào gan, phần còn lại trong tế bào Kupffer dưới dạng hemosiderin [11],[53]. Còn ở lách và tuỷ xương thì sắt chủ yếu được dự trữ tại các tế bào liên võng nội mô.

Sắt chiếm 20 - 25% trọng lượng phân tử ferritin [49],[54]. Ferritin là nguồn cung cấp sắt để tổng hợp hemoglobin trong hồng cầu. Khi hồng cầu tăng nhu cầu tổng hợp hemoglobin, lượng sắt trong nội bào cũng như lượng sắt trong phân tử ferritin giảm đi [49]. Ferritin tự do trong huyết thanh phản

ảnh nồng độ sắt dự trữ. Nồng độ ferritin tăng cao trong các trường hợp cơ thể thừa sắt, ngoài ra ferritin tăng cao còn gặp trong các trường hợp có khối u, viêm cấp và mạn tính [49],[54].

Hemosiderin là một phức hợp sắt - protein, không hoà tan, được tạo ra từ ferritin, khoảng 10% ferritin có khuynh hướng hình thành hemosiderin, có thể nhìn thấy được hemosiderin dưới kính hiển vi quang học sau khi nhuộm với ferrocyanure de potassium (Perls) [49]. Các dạng sắt trong hemosiderin là ferric oxit vô định hình. Những dạng sắt này kém hoạt tính hoá học hơn sắt ferritin nên khó được giải phóng ra dạng tự do hơn. Hemosiderin là sản phẩm cô đặc dạng bán tinh thể của ferritin tập trung chủ yếu trong gan, lách, tuỷ xương. Trong trường hợp thừa sắt, lượng hemosiderin có thể được tích lũy cao tới gấp 10 lần ferritin. Sắt trong hemosiderin khó được giải phóng hơn sắt trong ferritin [49],[54],[55].

1.3.2. Quá trình chuyển hóa sắt

Có 3 yếu tố chính ảnh hưởng đến cân bằng và chuyển hóa sắt là quá trình tiếp nhận, dự trữ và mất đi.

Phần lớn chuyển hoá sắt được thực hiện trong hệ thống khép kín giữa các khu vực với nhau. Ở người trưởng thành, 95% nhu cầu sắt để tạo hồng cầu được tái sử dụng từ quá trình phân huỷ hồng cầu già, chỉ có 5% lượng sắt được lấy thêm từ thức ăn. Cơ thể chỉ cần cung cấp 1 mg sắt/ngày là đủ cho nhu cầu tạo hồng cầu bình thường [48],[49].

Quá trình tiêu hoá và hấp thu sắt bắt đầu ở dạ dày nhưng chủ yếu tại hành tá tràng và đoạn đầu hồi tràng. Sự kiểm soát quá trình hấp thu sắt và lượng sắt được vận chuyển vào máu tĩnh mạch cửa phụ thuộc vào nhu cầu sắt và kho dự trữ sắt của cơ thể. Trong trường hợp cơ thể quá tải sắt, lượng sắt được hấp thu vào tế bào biểu mô ruột sẽ giảm đi [53],[56] .

1.3.2.1. Vận chuyển và sử dụng sắt

Trong suốt quá trình tế bào hồng cầu già sinh lý, cấu trúc màng tế bào bị thay đổi, dễ gắn kết với các IgG, là tín hiệu cho các đại thực bào ở gan và lách đến thực bào. Mỗi ngày có khoảng 1/120 số lượng hồng cầu bị thực bào, tạo ra khoảng 16,5 - 20 mg sắt, lượng sắt này được giải phóng vào máu, được transferrin vận chuyển đưa đến tủy xương để tạo hồng cầu mới [48],[53],[55].

Khi phức hợp transferrin - Fe^{3+} đi đến tế bào, Fe^{3+} gắn vào transferrin receptor (TfR) trên bề mặt tế bào đích và được vận chuyển vào trong tế bào. Nguyên hồng cầu có rất nhiều TfR1 [57]. Còn tế bào gan nhận sắt từ phức hợp transferrin - Fe^{3+} thông qua TfR1 và TfR2. Cấu trúc phân tử TfR1 phụ thuộc vào nồng độ sắt trong tế bào, phân tử TfR2 không phụ thuộc vào nồng độ sắt trong tế bào. TfR1 có khả năng gắn kết bền vững với transferrin cao hơn 20 lần so với TfR2. HFE là một protein tham gia điều hòa chuyển hóa sắt, HFE cạnh tranh với transferrin - Fe^{3+} tại vị trí TfR1. Phức hợp HFE - TfR1 ngăn cản không cho TfR1 gắn với transferrin - Fe^{3+} , do vậy sắt sẽ không thể được vận chuyển vào trong tế bào. Tuy nhiên, HFE không gắn với TfR2, nên TfR2 có thể vận chuyển không giới hạn sắt vào trong tế bào gây tình trạng thừa sắt trong tế bào như ở tế bào gan, tim, tuyến nội tiết [49],[50],[54],[56],[57]. Trong tế bào, sắt được chuyển đến ty lạp thể, tại đây sắt được gắn vào protoporphyrin để tổng hợp hem hoặc dự trữ trong ferritin [49],[55].

Ferroportin là một protein vận chuyển sắt xuyên màng tế bào, ferroportin có trong tế bào biểu mô đường tiêu hoá, tế bào gan, tế bào kupffer và đại thực bào. Trong cơ thể, hormon hepcidin điều hòa hoạt động của ferroportin [54].

1.3.2.2. Điều hoà chuyển hoá sắt trong tế bào:

Chất quan trọng nhất trong điều hòa chuyển hóa sắt là hepcidin, do gan sản xuất. Hepcidin điều tiết sự hấp thu sắt của các tế bào niêm mạc ruột và điều tiết quá trình giải phóng sắt của các đại thực bào. Hepcidin ức chế

ferroportin bằng cách gắn và giáng hóa ferroportin, dẫn đến giảm hấp thu sắt từ thức ăn vào tế bào biểu mô đường ruột. Hecpidin ức chế giải phóng sắt từ đại thực bào [53],[54],[58].

Ở người bình thường, khi cơ thể thiếu sắt, gan giảm tổng hợp hepcidin. Khi đó ferroportin được giải phóng, vận chuyển sắt từ thức ăn vào biểu mô ruột, rồi vào hệ tĩnh mạch cửa. Hecpidin giảm, đại thực bào tăng giải phóng sắt dự trữ trong ferritin. Khi cơ thể thừa sắt, gan tăng tổng hợp hepcidin, dẫn đến giảm ferroportin. Ferroportin giảm, làm tế bào biểu mô đường ruột giảm hấp thu sắt. Hecpidin tăng, đại thực bào hạn chế giải phóng sắt dự trữ trong ferritin [54],[55],[59].

1.3.3. Quá tải sắt ở bệnh nhân thalassemia

Tình trạng thừa sắt ở bệnh nhân thalassemia là hậu quả của việc truyền máu nhiều lần và tăng hấp thu sắt từ đường tiêu hóa. Nhóm bệnh nhân thalassemia phụ thuộc truyền máu, do phải truyền máu thường xuyên (2- 5 tuần/lần) ngay từ khi còn rất nhỏ tuổi, do đó bệnh nhân rất nhanh chóng bị quá tải sắt. Ở nhóm bệnh nhân thalassemia không phụ thuộc truyền máu (mức độ trung bình, mức độ nhẹ), tình trạng thiếu oxy tổ chức kéo dài và hiện tượng tăng sinh hồng cầu ở tủy xương đã ức chế gan tổng hợp hepcidin. Hecpidin giảm sẽ làm tăng hấp thu sắt từ đường tiêu hóa [60],[61],[62],[63].

1.3.3.1. Quá tải sắt do truyền máu

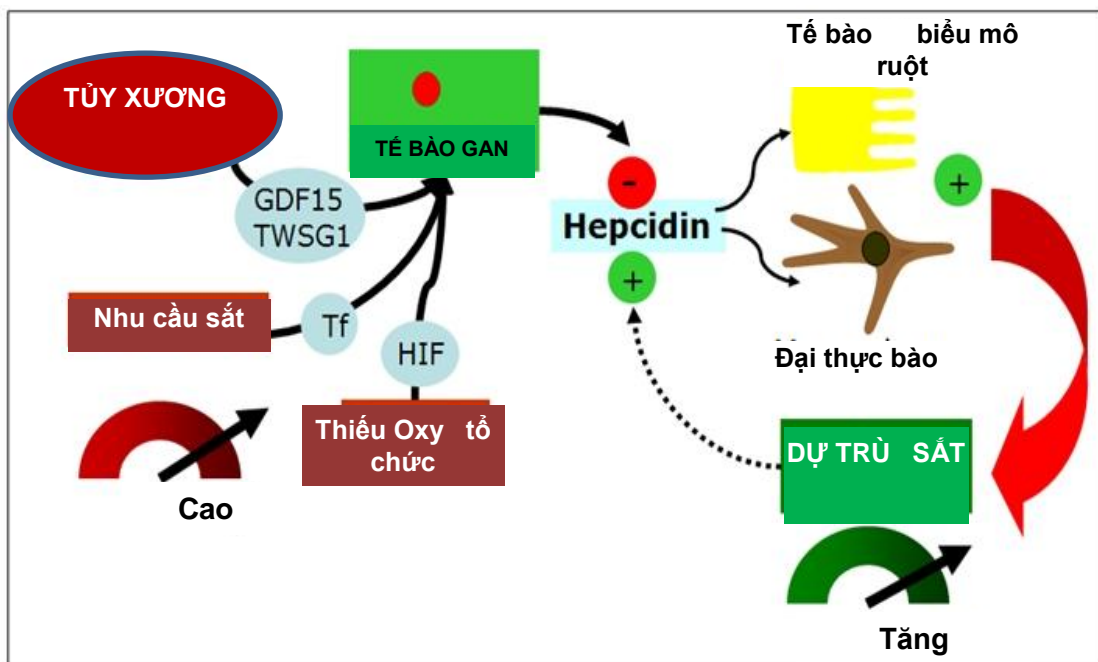
Mỗi một ml khối hồng cầu (KHC) chứa một mg sắt. Theo khuyến cáo của Liên đoàn Thalassemia quốc tế, bệnh nhân thalassemia mức độ nặng cần được truyền từ 100 đến 200 ml/kg/năm. Như vậy, sau một năm truyền máu, cơ thể sẽ bị nhận thêm một lượng sắt tích lũy gấp hai lần lượng sắt của người bình thường và gây ra tình trạng thừa sắt [11].

Bảng 1.3. Tốc độ tích lũy sắt do truyền máu ở bệnh nhân không dùng thuốc thải sắt [11]

Trọng lượng bệnh nhân	20 kg	35 kg	50 kg
Thể tích KHC/năm (ml)	2.000 - 4.000	3.500 - 7.000	5.000 - 10.000
Lượng sắt tích lũy/năm (g)	2,3 - 4,6	4,1 - 8,2	5,8 - 11,6
Lượng sắt tích lũy/ngày (mg)	6,3 - 12,6	11,2 - 22,5	15,9 - 31,8

1.3.3.2. Quá tải sắt do rối loạn điều hòa chuyển hóa sắt.

Hepcidin là nhân tố chính điều hòa quá tải sắt. Trong thalassemia, nồng độ hepcidine bị tác động bởi 2 yếu tố là yếu tố biệt hóa tăng trưởng (growth differentiation factor 15 - GDF15) và yếu tố cảm ứng do thiếu oxy tổ chức (hypoxia inducible factor - HIF). GDF15 ức chế mRNA hepcidin trong tế bào gan, còn HIF gắn vào vùng khởi động của gen hepcidin và ức chế tổng hợp hepcidin [58],[59].



GDF: Growth differentiation factor - yếu tố phát triển biệt hóa;
 TWSG: Twisted gastrulation; Tf: transferrin;
 HIF : Hypoxia inducible factor - yếu tố cảm ứng khi thiếu oxy tổ chức

Hình 1.4. Cơ chế điều hòa chuyển hóa sắt của hepcidin

Nguồn: <http://www.mjhid.org/index.php/mjhid/article/viewFile/120/28/107>

Trong β -thalassemia mức độ nặng có hiện tượng sinh hồng cầu không hiệu lực, các nguyên hồng cầu tăng sinh, biệt hóa kém và bị chết sớm. Mức độ sinh hồng cầu không hiệu lực có tương quan với mức độ tăng nồng độ GDF1, từ đó dẫn đến giảm hepcidin [65],[66],[67],[68]

Người bình thường, mỗi ngày có khoảng từ 1 đến 2 mg/ngày sắt được hấp thu từ đường ruột. Bệnh nhân thalassemia, do hepcidine giảm, nên lượng sắt hấp thu từ đường tiêu hóa tăng, có thể gấp tới trên 5 lần người bình thường [60],[61],[62],[63].

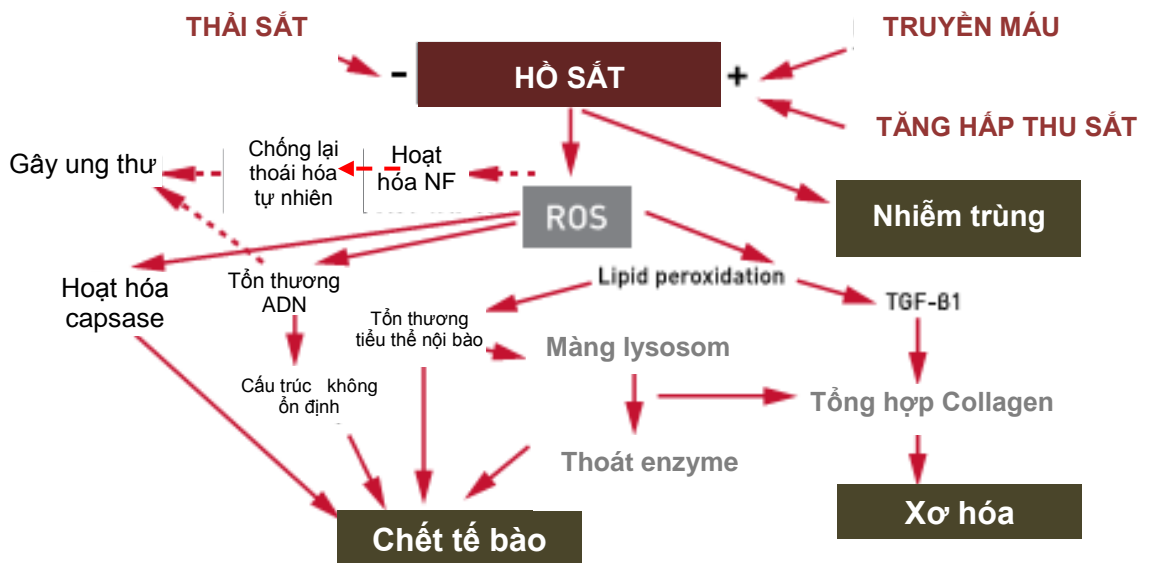
Nhóm bệnh nhân thalassemia không phụ thuộc truyền máu, mặc dù rất ít truyền máu, nhưng mỗi ngày hấp thu từ 3 đến 4 mg sắt thì chỉ sau 1 năm lượng sắt tích lũy thêm khoảng 1.000 mg, lượng sắt tích lũy vào gan là $0,38 \pm 0,49$ mg Fe/g gan trọng lượng khô. Do vậy, sau 15 năm, ở nhóm bệnh nhân này lượng sắt dư thừa này có thể gây tổn thương các cơ quan trong cơ thể [69],[70].

1.3.3.3. Hậu quả của tình trạng quá tải sắt

Khi sắt huyết thanh tăng lên 10 lần, các vị trí gắn sắt của transferrin đã bão hoà, sắt không gắn được với transferrin sẽ gắn không đặc hiệu với các chất khác như albumin, citrate, aminoacid và đường. Bình thường, quá trình vận chuyển sắt vào trong tế bào phụ thuộc sự tương tác của transferrin với thụ thể TfR trên tế bào. Trong trường hợp sắt không gắn với transferrin, sắt vào tế bào qua kênh calci. Những tế bào ngoài hồng cầu, đặc biệt là gan, tuyến nội tiết, thận và cơ tim thường có ưu thế nhận sắt từ con đường không phụ thuộc transferrin. Do vậy, những tổ chức này nhanh chóng tiếp nhận sắt khi cơ thể có dấu hiệu thừa sắt. Đầu tiên sắt được tích lũy vào tế bào Kupffer trong gan và đại thực bào trong lách, rồi đến tế bào nhu mô gan, tế bào cơ tim, tuyến nội tiết. Những ion sắt gắn không đặc hiệu này dễ dàng bị thay đổi trạng thái từ

Fe³⁺ thành Fe²⁺ sinh ra các gốc tự do. Những gốc tự do này sinh ra các chủng oxy hoạt tính (reactive oxygen species - ROS). Chủng oxy hoạt tính sẽ peroxid hóa lớp màng lipid tế bào, màng lysosom, gây tổn thương ADN, thay đổi cơ chế điều hòa tế bào, làm tế bào tự thoái hóa, làm tăng nguy cơ sinh tế bào non, đồng thời góp phần làm tăng hoạt động của vi sinh vật, do đó làm tăng nguy cơ nhiễm trùng và ung thư [51],[71].

Theo nhiều tác giả đã nghiên cứu, nếu bệnh nhân không được điều trị thải sắt thì quá tải sắt chính là nguyên nhân chính gây tử vong cho bệnh nhân thalassemia (70%) [11],[12].



Hình 1.5. Cơ chế bệnh sinh của tình trạng quá tải sắt.

Nguồn: Guidelines for management of transfusion dependent thalassemia (TDT) [11].

❖ *Biến chứng trên tim mạch*

Quá tải sắt tại tim là nguyên nhân chủ yếu gây biến chứng trên tim mạch ở bệnh nhân thalassemia, những biến chứng có thể gặp là suy tim, rối loạn nhịp tim, viêm cơ tim, viêm màng ngoài tim, ... Đây cũng là những

nguyên nhân chính, chiếm tới 70% các nguyên nhân gây tử vong cho bệnh nhân thalassemia [10],[11],[73],[74].

❖ *Biến chứng tại gan*

Quá tải sắt tại gan gây gan xơ hóa và cuối cùng là xơ gan. Khi bệnh nhân có kèm theo viêm gan virus mạn tính thì biến chứng này càng nặng nề hơn. Nhiều nghiên cứu cho thấy rằng, khi nồng độ sắt trong gan trên 7 mg/g trọng lượng gan khô sẽ làm tăng nguy cơ xơ gan lên gấp nhiều lần. Tỷ lệ xơ hóa và xơ gan ở bệnh nhân thalassemia có thể gặp từ 44% gặp 50% [10],[11],[75].

❖ *Biến chứng tuyến nội tiết*

Biến chứng các tuyến nội tiết thường biểu hiện sớm nhất và phổ biến nhất ở bệnh nhân thalassemia. Biểu hiện bệnh rất đa dạng:

❖ *Chậm tăng trưởng*: Bệnh nhân thalassemia mức độ nặng, có biểu hiện chậm tăng trưởng rất sớm, từ những năm đầu đời. Bệnh nhân thalassemia mức độ trung bình, thường tăng trưởng tương đối bình thường cho đến 9 - 10 tuổi, sau đó tăng trưởng chậm lại. Nguyên nhân của chậm tăng trưởng là do suy tuyến yên, tuyến sinh dục dẫn đến thiếu yếu tố kích thích tăng trưởng. Những nguyên nhân tổn thương tuyến nội tiết chủ yếu là do thiếu máu nặng và quá tải sắt tại các mô, cơ quan [10],[11],[76],[77].

❖ *Dậy thì muộn và suy sinh dục*: Ở bệnh nhân nữ, dấu hiệu dậy thì muộn và suy sinh dục được biểu hiện bằng việc không dậy thì khi đã 13 tuổi và không phát triển ngực ở tuổi 16. Biểu hiện không dậy thì ở bệnh nhân nam khi 14 tuổi và tình trạng không gia tăng kích thước của tinh hoàn ở tuổi 16. Hầu hết phụ nữ bị thalassemia thể nặng có biểu hiện vô kinh nguyên phát, hoặc thứ phát, đặc biệt với những bệnh nhân không hoặc ít được thải sắt [10],[11],[76],[77].

❖ Rối loạn chuyển hóa đường: Đây là hậu quả của sự phá hủy tế bào beta của tuyến tụy, nguyên nhân thứ phát là do quá tải sắt, do bệnh gan mạn, do nhiễm virus hoặc yếu tố di truyền. Cơ chế bệnh sinh tương tự như đái tháo đường typ 2 [10],[11],[76],[77].

❖ Suy giáp: Thường xuất hiện sau 10 tuổi, nguyên nhân là do thiếu máu nặng hoặc quá tải sắt nặng. Vì vậy, nhiều tác giả khuyến cáo nên làm các xét nghiệm đánh giá chức năng tuyến giáp (FT4, TSH) cho bệnh nhân thalassemia từ 12 tuổi và nên thực hiện mỗi năm một lần [10],[11],[76],[77].

❖ Suy cận giáp: Hạ canxi máu do suy cận giáp được cho là biến chứng muộn ở bệnh nhân thalassemia do quá tải sắt và/hoặc thiếu máu, biến chứng thường biểu hiện sau 15 tuổi. Xét nghiệm chỉ số hormon cận giáp ở bệnh nhân có thể bình thường hoặc thấp. Chụp XQ và đo mật độ xương có thể thấy tình trạng loãng xương và biến dạng xương [10],[11],[76],[77].

❖ *Biến chứng xương*

Tổn thương xương là một biến chứng rất phổ biến ở bệnh nhân thalassemia, làm giảm chất lượng cuộc sống của người bệnh. Nguyên nhân chủ yếu là do tình trạng thiếu máu nặng mạn tính làm tăng sinh tạo máu dẫn đến mỏng vỏ xương, biến dạng xương; Tình trạng quá tải sắt làm giảm tạo cốt bào; Các tuyến nội tiết bị tổn thương dẫn tới các hormon tác động đến hệ xương bị suy giảm. Tất cả các yếu tố này làm cho bệnh nhân bị giảm mật độ xương, loãng xương, dễ gãy xương [10],[11],[78],[79].

1.3.4. Các phương pháp đánh giá quá tải sắt

1.3.4.1. Định lượng ferritin huyết thanh (serum ferritin - SF)

Nồng độ ferritin huyết thanh được sử dụng phổ biến nhất vì có tương quan với lượng sắt dự trữ của cơ thể, kỹ thuật xét nghiệm không khó, thời

gian ngắn và chi phí thấp. Ferritin huyết thanh rất có giá trị trong đánh giá xu hướng tình trạng sắt tích lũy trong cơ thể. Xu hướng giảm ferritin huyết thanh là bằng chứng giảm dự trữ sắt trong cơ thể. Tuy nhiên, xu hướng ferritin huyết thanh tăng không phải chỉ thể hiện tình trạng tăng dự trữ sắt mà còn có thể là do viêm hoặc tổn thương tổ chức mô. Theo dõi bệnh nhân định kỳ bằng chỉ số ferritin huyết thanh có ý nghĩa để đánh giá nguy cơ biến chứng do quá tải gây ra. Theo khuyến cáo của Liên đoàn thalassemia quốc tế, xét nghiệm ferritin huyết thanh nên được thực hiện hàng tháng và đánh giá mức độ quá tải sắt nên dựa vào kết quả của ferritin huyết thanh trong 3 tháng liên tiếp. Ferritin huyết thanh cũng được sử dụng để đánh giá hiệu quả điều trị thải sắt [11].

1.3.4.2. Nồng độ sắt trong gan (Liver iron concentration - LIC):

Nồng độ sắt trong gan là chỉ số tin cậy nhất để đánh giá tổng lượng sắt trong cơ thể. Theo Angelucci E., tổng lượng sắt trong cơ thể được tính theo công thức [64]:

Tổng lượng sắt trong cơ thể (mg sắt/kg trọng lượng) = 10,6 x LIC (mg/g gan khô)

Giá trị LIC bình thường: < 1,8 mg/g gan khô [11].

LIC là chỉ số được dùng để theo dõi và đánh giá hiệu quả điều trị thải sắt, nên được định kỳ thực hiện với khoảng cách 6 - 12 tháng/lần [11].

- Phương pháp xác định LIC bằng sinh thiết gan

Xác định LIC bằng phương pháp hóa học trên mảnh bệnh phẩm sinh thiết gan (mẫu tươi, cố định bằng parafin). Ưu điểm của phương pháp này là đánh giá được tình trạng mô bệnh học của gan. Hạn chế của phương pháp sinh thiết là kích thước mẫu bệnh phẩm thường không đều, sự phân bố sắt trong bệnh phẩm không đều, đặc biệt trong trường hợp có xơ gan nên có thể dẫn đến kết quả sai lệch. Bên cạnh đó, thủ thuật xâm lấn của phương pháp này cũng là một hạn chế, mặc dù đã có nghiên cứu cho thấy tỷ lệ gặp biến

chúng do phương pháp này gây ra là thấp nhưng vẫn gây đau và không đảm bảo an toàn cho người bệnh. Hiện nay, chưa có một tiêu chuẩn thống nhất giữa các phòng xét nghiệm của kỹ thuật này, dẫn đến kết quả giữa các phòng xét nghiệm có thể khác nhau [11].

- *Phương pháp xác định sắt trong mô bằng cộng hưởng từ (Magnetic resonance imaging - MRI*

Chụp cộng hưởng từ là kỹ thuật xét nghiệm không xâm lấn, không dùng tia X, hình ảnh có độ tương phản cao, khảo sát đa mặt cắt, đặc thù theo các tính chất hoá lý của mô khảo sát do vậy kết quả xét nghiệm có tính chính xác và đặc hiệu cho các tổ chức mô, theo tình trạng bệnh lý. Đây là một phương pháp xét nghiệm an toàn không độc hại cho người bệnh [13],[14].

Kỹ thuật chụp cộng hưởng từ để đánh giá mức độ ứ sắt ở gan được áp dụng từ năm 1994, tác giả Jensen là một trong những người đầu tiên áp dụng cộng hưởng từ để đánh giá quá tải sắt tại gan và tìm bằng phương pháp định tính bằng cách so sánh tín hiệu tại gan và cơ vân [13]. Vào đầu những năm 2000, cùng những tiến bộ vượt bậc về kỹ thuật cộng hưởng từ và việc ứng dụng chuỗi xung GRE T2 và T2* đã cho phép đánh giá mức độ ứ sắt ở gan và tìm một cách dễ dàng hơn. Cộng hưởng từ đã được chứng minh là phương pháp có thể đánh giá lượng sắt trong mô và có tương quan chặt chẽ với phương pháp sinh thiết [80],[81],[82],[83].

Nguyên lý: Sắt không có hình dạng trên cộng hưởng từ, nhưng sắt làm thay đổi từ trường của mô chứa nó, khi mô trong cơ thể chứa hàm lượng sắt lớn sẽ giảm tín hiệu trên cộng hưởng từ. Vì vậy, dựa vào sự thay đổi của tín hiệu trên cộng hưởng từ để chẩn đoán nồng độ sắt trong các mô tổ chức.

a) *Một số kỹ thuật xác định mức độ sắt trong mô bằng cộng hưởng từ*

(1). *So sánh mức độ giảm tín hiệu trên cộng hưởng từ ở gan với cơ:*

Kỹ thuật chụp cộng hưởng từ so sánh độ giảm tín hiệu trên cơ và gan được áp dụng đầu tiên vào năm 1994, được sử dụng trên các máy cộng hưởng từ 0,5 - 1,5 Tesla.

Kỹ thuật này sử dụng các chuỗi xung GRE: T1, PD, T2, T2* qua vùng giữa gan. Đo tín hiệu trên vùng phân tích (regions of interest - ROIs), diện tích khoảng 1 cm² ở 5 vùng gồm ba điểm trên gan phải và 2 điểm ở 2 cơ cạnh cột sống (phải và trái). Bình thường tín hiệu trên cộng hưởng từ ở gan cao hơn cơ.

Tính chỉ số LIC theo thuật toán của trung tâm chẩn đoán hình ảnh tại đại học Rennes - Pháp (dựa trên mối tương quan giữa: tỉ lệ cường độ tín hiệu gan - cơ và sinh thiết để tính nồng độ sắt trong gan) [13]. Kỹ thuật này đã được khoa Chẩn đoán hình ảnh bệnh viện Bạch Mai ứng dụng năm 2009, đây là kỹ thuật không thuận lợi vì thời gian chụp kéo dài, thực hiện nhiều phép đo và không tính được nồng độ sắt trong tim, do vậy hiện nay kỹ thuật này ít được sử dụng trên thế giới [84].

(2). *Kỹ thuật sử dụng chuỗi xung MGRE (Multiecho gradient echo) T2**

Kỹ thuật sử dụng chuỗi xung MGRE T2* được ứng dụng phổ biến trên thế giới do việc thực hiện kỹ thuật dễ dàng và có thể đo nồng độ sắt ở cả tim và gan trong một lần chụp [14],[85],[86]. Kỹ thuật này được thực hiện trên các máy cộng hưởng từ 1.5 Tesla.

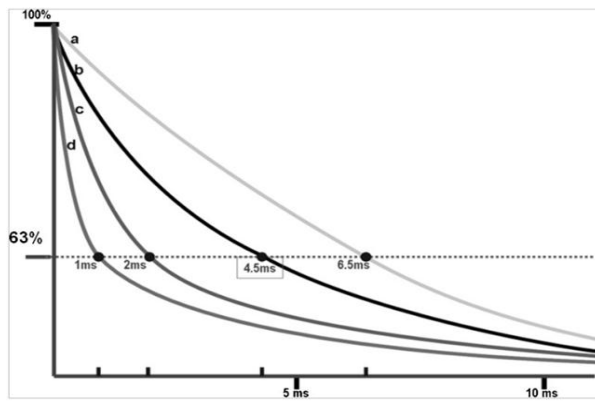
Sử dụng chuỗi xung MGRE (Multiecho gradient echo) trên một mặt cắt qua mô với các thời gian phản hồi (TE) khác nhau. Sau đó đo tín hiệu trên vùng phân tích (Region of interest – ROIs) của mô tại các thời gian phản hồi (Echo Time -TE) khác nhau sẽ thu được giá trị T2* đơn vị tính là mili giây (mili second - ms) và được tính theo công thức:

$$S(TE) = K.e^{TE \times 1/T2^*}$$

K: Là hằng số

S: Cường độ tín hiệu của mô tại các thời điểm TE, đơn vị đo là Hz.

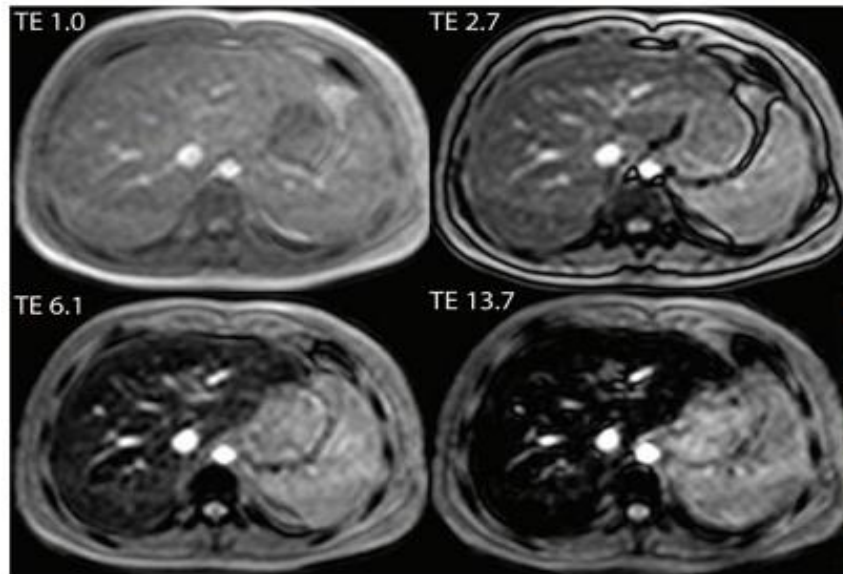
TE (Echo Time): Các thời điểm đo, đơn vị tính là ms



Hình 1.6. Đồ thị diễn tả các mức thời gian suy giảm 63% tín hiệu

(a): giá trị bình thường

(b, c, d): các mức độ quá tải sắt trên $T2^*$ [86]



Hình 1.7. Hình ảnh tín hiệu Echo tại các thời gian phản hồi TE

Nguồn tham khảo: Wood J.C. (2011). Impact of iron assessment by MRI[14]

Hiện nay, bệnh viện Bạch Mai đang áp dụng kỹ thuật này để đo nồng độ sắt trong gan và tim trên máy cộng hưởng từ 1.5 Tesla.

a. Đo nồng độ sắt ở gan:

Nồng độ sắt trong gan được áp dụng công thức theo kết quả nghiên cứu của tác giả Jane S. Hankins và các cộng sự năm 2009 [11],[14],[85],[87]

Tác giả Jane S. Hankins đã tiến hành nghiên cứu ở cứu các bệnh nhân trên 7 tuổi, có quá tải sắt với nồng độ ferritin huyết thanh > 1000 ng/ml trong vòng 3 tháng hoặc đã truyền trên 18 đơn vị khối hồng cầu. Tất cả các bệnh nhân đều được chụp cộng hưởng từ đánh giá tình trạng quá tải sắt trong gan, xét nghiệm ferritin huyết thanh và được sinh thiết gan sau chụp cộng hưởng từ. Kết quả nghiên cứu cho thấy có mối tương quan chặt chẽ giữa R2* và nồng độ sắt trong gan trên sinh thiết. Từ đó, ông đã đưa ra công thức tính nồng độ sắt trong gan trên cộng hưởng từ theo R2* (dựa trên phương trình hồi qui tuyến tính giữa R2* và nồng độ sắt trong gan sinh thiết) [87]:

$$LIC = (-454,84 + (28,02 \times R2^*)/1000$$

b. Đo nồng độ sắt ở tim:

Nồng độ sắt trong tim được áp dụng bằng công thức tính theo kết quả nghiên cứu của John-Paul Carpenter và các cộng sự năm 2011 [11],[14],[86]

Tác giả John-Paul Carpenter là người đầu tiên nghiên cứu so sánh giữa phương pháp đánh giá nồng độ sắt ở tim bằng cộng hưởng từ và phương pháp đánh giá nồng độ sắt ở tim bằng giải phẫu bệnh. Nghiên cứu được thực hiện trên 12 trái tim của các bệnh nhân thường xuyên truyền máu: có 11 bệnh nhân có biểu hiện suy tim (7 người chết do suy tim, 4 người được ghép tim trong suy tim giai đoạn cuối), 1 bệnh nhân bị đột quy. Các trái tim được cắt thành 4-5 lát dày 1 cm, mỗi lát được chia ra làm 18 khu vực để phân tích, được cố định trong formalin để đo hàm lượng sắt. Kết quả của nghiên cứu cho thấy nồng độ sắt tại vị trí vách liên thất có thể đại diện cho nồng độ sắt của cả trái tim.

Có mối tương quan tuyến tính mạnh giữa Ln [R2*] cơ tim và Ln [Fe] cơ tim ($R^2=0,910$, $P<0,001$), từ đó tác giả có được phương trình hiệu chuẩn giữa [Fe] milligram/ gram trọng lượng khô (giải phẫu) và T2* mili giây (cộng hưởng từ):

$$[Fe] = 45 (T2^*)^{-1.22}$$

(3). *Kỹ thuật sử dụng chuỗi xung Spin Echo T2 (Ferriscan)*

Kỹ thuật sử dụng chuỗi xung Spin Echo T2 được tác giả St Pierre áp dụng năm 2005 và đã được chứng nhận pháp lý quốc tế tại Mỹ, Châu Âu và Úc. Đây là kỹ thuật chính xác, có tương quan chặt với sinh thiết gan và mối tương quan chặt với các kỹ thuật đo cộng hưởng từ sắt ở gan với các kỹ thuật trên chuỗi xung MGRE T2* [14],[82],[83]. Kỹ thuật sử dụng chuỗi xung Spin Echo T2 được thực hiện trên máy cộng hưởng từ 1.5 Tesla.

- Ưu điểm:

- + Kỹ thuật thực hành đơn giản;
- + Không bị ảnh hưởng bởi hình dạng và kích thước của điểm ảnh và sự không đồng nhất của từ trường bên ngoài như trong kỹ thuật dùng chuỗi xung MGRE T2*;
- + Chuỗi xung Spin Echo T2 nhạy cảm với ferritin hơn chuỗi xung MGRE T2* trong đánh giá sắt tại gan.

- Nhược điểm:

- + Chuỗi xung Spin Echo T2 không nhạy với từ tính của sắt trong gan ở dạng bền vững hemosiderin bằng kỹ thuật MGRE T2*;
- + Thời gian chụp lâu hơn (5 - 20 phút) nên cần sự kết hợp của bệnh nhân tốt hơn;
- + Không đánh giá được mức độ sắt trong tim;
- + Giá thành để đọc các kết quả của phương pháp này khá cao do phải gửi hình ảnh đến trung tâm Ferriscan để xử lý và tính toán bằng phần mềm chuyên dụng có bản quyền.

1.3.5. Các nghiên cứu tình trạng quá tải sắt ở bệnh nhân thalassemia

Ở Việt Nam, bệnh nhân thalassemia chủ yếu được đánh giá tình trạng quá tải sắt dựa vào chỉ số ferritin huyết thanh. Các nghiên cứu về tình trạng quá tải

sắt và đánh giá hiệu quả điều trị thải sắt dựa vào cộng hưởng từ trên bệnh nhân thalassemia chưa nhiều.

Tác giả Hoàng Thị Hồng đã nghiên cứu tình trạng quá tải sắt của 20 bệnh nhân thalassemia được điều trị tại Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương năm 2011 bằng kỹ thuật chụp cộng hưởng từ gan, phương pháp so sánh mức độ giảm tín hiệu trên cộng hưởng từ ở gan với cơ. Kết quả cho thấy 100% bệnh nhân có ferritin > 2500 ng/ml có quá tải sắt nặng ở gan [84].

Năm 2014, tác giả Lâm Mỹ Hạnh đã nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và điều trị thải sắt trên 64 bệnh nhân thalassemia tại khoa Huyết học, bệnh viện Chợ Rẫy. Tác giả đánh giá tình trạng sắt quá tải sắt trên bệnh nhân bằng chỉ số ferritin huyết thanh [88].

Tác giả Nguyễn Thị Hồng Hoa và cộng sự năm 2014 đã đánh giá hiệu quả điều trị thải sắt bằng deferasirox trên nhóm bệnh nhân thalassemia phụ thuộc truyền máu tại bệnh viện Truyền máu Huyết học Hồ Chí Minh và đã chỉ ra rằng deferasirox có hiệu quả trong thải sắt bệnh nhân thalassemia phụ thuộc truyền máu có quá tải sắt mức độ nặng, thể hiện qua giảm ferritin huyết thanh và LIC [89].

Trên thế giới, nhiều nước đã ứng dụng cộng hưởng từ để đánh giá và theo dõi hiệu quả điều trị thải sắt.

Tác giả Khaled M. Musallam, Maria Domenica Cappellini và cộng sự năm 2011 đã nghiên cứu trên 168 bệnh nhân β -thalassemia mức độ trung bình về quá tải sắt và mối liên quan giữa quá tải sắt và một số biến chứng. Đánh giá mức độ quá tải sắt bằng chỉ số ferritin huyết thanh và nồng độ sắt trong gan (LIC) đo bằng cộng hưởng. Kết quả cho thấy chỉ số LIC trung bình ở nhóm bệnh nhân nghiên cứu là $8,4 \pm 6,7$ mg sắt/g gan khô. Với nhóm bệnh nhân có LIC > 7 mg sắt/g gan khô, thì nguy cơ bị biến chứng tim mạch, nội tiết cao hơn so với nhóm bệnh nhân có LIC < 7 mg sắt/g gan khô [75].

Tác giả Ali T. Taher, Khaled M. Musallam và cộng sự năm 2009 đã nghiên cứu mức độ quá tải sắt ở gan và tim bằng cộng hưởng từ trên hai nhóm bệnh nhân phụ thuộc truyền máu và không phụ thuộc truyền máu. Kết quả cho thấy nồng độ sắt trong gan ở cả hai nhóm bệnh nhân là tương đương nhau ($15,0 \pm 7,4$ và $15,7 \pm 9,9$ mg sắt/g gan khô), nhưng nồng độ ferritin huyết thanh và nồng độ sắt trong tim ở nhóm bệnh nhân phụ thuộc truyền máu cao hơn nhóm không phụ thuộc truyền máu [90].

Nghiên cứu ESCALATOR năm 2011 đánh giá hiệu quả điều trị thải sắt của deferasirox trên 233 bệnh nhân β -thalassemia. Kết quả cho thấy, nồng độ sắt trong gan (LIC) trước điều trị trung bình là $18,0 \pm 9,1$ mg sắt/g gan khô, sau 1 năm điều trị thải sắt bằng thuốc deferasirox với liều 20 mg/kg/ngày, LIC giảm trung bình 3,4 mg sắt/g gan khô [91].

Nghiên cứu đa quốc gia CORDELIA đánh giá hiệu quả thải sắt ở 925 bệnh nhân phụ thuộc truyền máu trong đó có 902 bệnh nhân β -thalassemia thể nặng được sử dụng deferasirox, desferioxamin tại 22 trung tâm ở 11 quốc gia. Kết quả, $T2^*$ tim (ms) tăng 12% ở nhóm dùng thuốc deferasirox, tăng 7% ở nhóm dùng thuốc desferioxamin. Hiệu quả giảm LIC và ferritin huyết thanh ở nhóm dùng thuốc desferioxamin tốt hơn nhóm dùng thuốc deferasirox [92].

Như vậy, cộng hưởng từ đã và đang được sử dụng khá phổ biến để đánh giá tình trạng quá tải sắt và theo dõi hiệu quả điều trị thải sắt trên bệnh nhân thalassemia. Hiệu quả của việc ứng dụng này rất có ý nghĩa trong thực tiễn lâm sàng. Tuy nhiên, tại Việt Nam, kỹ thuật này mới chỉ được ứng dụng ở một số bệnh viện lớn tại Hà Nội và thành phố Hồ Chí Minh.

CHƯƠNG 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu cho mục tiêu 1

Nhóm 1 làm xét nghiệm xác định đột biến gen globin bằng Strip Assay

2.1.1.1. Cách chọn mẫu:

Cỡ mẫu: dựa vào công thức tính cỡ mẫu cho việc ước tính một tỷ lệ:

$$n = \frac{Z_{1-\alpha/2}^2 p(1-p)}{d^2}$$

n: Cỡ mẫu;

$Z_{1-\alpha/2}^2$: Hệ số giới hạn tin cậy, khoảng tin cậy 95% ($\alpha = 0,05$), giá trị Z là 1,96;

Dựa vào kết quả nghiên cứu của tác giả Nguyễn Khắc Hân Hoan [36], trong tổng số 1.002 alen đột biến α -globin, có 6 đột biến trên 993 alen (chiếm 99,1% các alen đột biến). Sáu đột biến này có trong panel của α -Globin Strip Assay. Trong 498 alen đột biến β -globin, có 9 loại đột biến trên 490 alen (chiếm 98,4% các alen đột biến). Chín đột biến này có trong panel của β -Globin Strip Assay. Vì thế:

- Đối với bộ kit α -Globin Strip Assay, chọn $p = 0,991$ và $d = 0,02$ thì cỡ mẫu n tối thiểu là 86.

- Đối với bộ kit β -Globin Strip Assay, chọn $p = 0,984$ và $d = 0,02$ thì cỡ mẫu n tối thiểu là 151.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã chọn tất cả những đối tượng có thể có gen bệnh thalassemia gồm bệnh nhân, người khỏe mạnh nghi ngờ mang gen, thai nhi (bằng cách chẩn đoán trước sinh trên sản phụ). Cụ thể, đã thực hiện sử dụng bộ kit α -Globin Strip Assay để chẩn đoán cho 103 trường hợp gồm:

- 46 sản phụ có chồng cùng mang gen bệnh α -thalassemia (chẩn đoán trước sinh);

- 16 bệnh nhân α -thalassemia;

- 41 người khỏe mạnh nghi ngờ mang gen α -thalassemia.

Và sử dụng bộ kit β -Globin Strip Assay để chẩn đoán cho 163 trường hợp, gồm:

- 100 sản phụ có chồng cùng mang gen bệnh β -thalassemia (chẩn đoán trước sinh);

- 34 bệnh nhân thalassemia β -thalassemia;

- 29 người khỏe mạnh nghi ngờ mang gen bệnh β -thalassemia.

2.1.1.2. Tiêu chuẩn lựa chọn:

- Sản phụ có thai từ 16 đến 20 tuần, cả sản phụ và người chồng đã được chẩn đoán xác định có mang đột biến gen bệnh thalassemia;

- Bệnh nhân tại Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương được chẩn đoán bị bệnh thalassemia dựa vào lâm sàng có hội chứng thiếu máu (mạn tính), hội chứng tan máu; chỉ số hồng cầu có thiếu máu nhược sắc hồng cầu nhỏ; thành phần huyết sắc tố có HbH trong α -thalassemia, HbF tăng (> 4%) và hoặc HbA2 tăng (> 3,5%) trong β -thalassemia;

- Người nghi ngờ mang gen bệnh thalassemia là những người không có biểu hiện lâm sàng (cán bộ nhân viên Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương, sản phụ, người nhà bệnh nhân thalassemia, ...), được làm xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi có chỉ số hồng cầu nhỏ (MCV < 85 fl, MCH < 28 pg); thành phần huyết sắc tố có HbF tăng (> 4%) và hoặc HbA2 tăng (> 3,5%) được nghi mang gen bệnh β -thalassemia, HbA2 giảm nhẹ hoặc bình thường được nghi mang gen bệnh α -thalassemia;

- Các đối tượng tự nguyện tham gia nghiên cứu.

2.1.1.3. Tiêu chuẩn loại trừ:

- Người nghi ngờ mang gen bệnh thalassemia có thiếu sắt hoặc đang bị các bệnh nhiễm trùng hoặc bệnh ác tính kèm theo;
- Sản phụ có chống chỉ định chọc hút dịch ối (theo ý kiến của chuyên khoa sản) như: không đồng ý chọc ối, thai phụ đang mắc các bệnh lý sản khoa khác, có nguy cơ sảy thai...

2.1.2. Đối tượng nghiên cứu cho mục tiêu 2

Nhóm 2 được chụp cộng hưởng từ để đánh giá tình trạng quá tải sắt tại gan và tim.

2.1.2.1. Cách chọn mẫu:

Cỡ mẫu: dựa vào công thức tính cỡ mẫu cho việc ước tính một tỷ lệ:

$$n = \frac{Z_{1-\alpha/2}^2 p(1-p)}{d^2}$$

Do chưa có nghiên cứu nào đánh giá tình trạng quá tải sắt bằng MRI trên bệnh nhân thalassemia ở tất cả các mức độ tại Việt Nam, vì thế chúng tôi chọn $p = 0,5$ để n lớn nhất và $d = 0,05$ thì cỡ mẫu n tối thiểu là 385 mẫu. Đồng thời, theo dõi, đánh giá tình trạng quá tải sắt ở tất cả bệnh nhân có tuân thủ điều trị thải sắt trong 1 năm nghiên cứu.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã nghiên cứu tình trạng quá tải sắt cho 434 bệnh nhân thalassemia. Theo dõi dọc cho 54 bệnh nhân được điều trị thải sắt thường xuyên (bệnh nhân được khám và điều trị thuốc thải sắt định kỳ 2 tuần đến 5 tuần/lần trong thời gian 1 năm) và 131 bệnh nhân không được điều trị thải sắt thường xuyên (không được khám và điều trị thải sắt định kỳ như nhóm trên), đánh giá tình trạng quá tải sắt và các biến chứng của quá tải sắt trước và sau 1 năm.

2.1.2.2. Tiêu chuẩn lựa chọn

- Bệnh nhân được chẩn đoán xác định bị bệnh thalassemia;

- Bệnh nhân có khả năng phối hợp làm theo chỉ dẫn của cán bộ y tế khi chụp cộng hưởng từ;

- Bệnh nhân hoặc người bảo trợ đồng ý tham gia làm xét nghiệm.

2.1.2.3. Tiêu chuẩn loại trừ

- Bệnh nhân đang có tình trạng nhiễm trùng cấp hoặc mạn tính;
- Bệnh nhân đang có thai;
- Bệnh nhân bị bệnh tim bẩm sinh;
- Bệnh nhân bị viêm gan cấp;
- Bệnh nhân có dị vật kim loại trong cơ thể (như đinh vít, nẹp vít...).

2.1.2.4. Nguyên tắc điều trị thải sắt (Theo hướng dẫn của Liên Đoàn Thalassaemia quốc tế [10])

Bệnh nhân có chỉ định điều trị thải sắt khi có 1 trong 3 tiêu chuẩn sau:

- Bệnh nhân đã nhận trên 10 đơn vị máu;
- Ferritin huyết thanh trên 800 ng/ml hoặc trên 500 ng/ml và bệnh nhân tiếp tục phải truyền máu định kỳ thường xuyên.
- LIC > 5 mg/g.

Ngừng điều trị thải sắt khi ferritin < 300 ng/ml hoặc LIC < 3mg/g.

Các loại thuốc thải sắt:

Thuốc deferasirox 125 mg hoặc 250 mg: 10 -30 mg/kg/ngày, uống 1 lần trước ăn 30 phút.

Thuốc deferipron 500mg: 30 – 60 mg/kg/ngày, uống chia 3 lần/ngày

Thuốc deferoxamin 500mg: 40 mg/kg đối với trẻ em, 50 mg/kg đối với người lớn. 5 – 7 ngày/ tuần.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả cắt ngang và có theo dõi dọc với nhóm bệnh nhân được điều trị thải sắt.

2.2.2. Các chỉ số nghiên cứu

Nhóm 1: Xét nghiệm xác định đột biến gen globin bằng bộ kit Globin Strip Assay

Xét nghiệm	Chỉ số	Biến
Tổng phân tích tế bào máu ngoại vi	Hb MCV MCH	Định lượng Định lượng Định lượng
Phân tích thành phần huyết sắc tố	HbA HbA2 HbF HbE HbH Hb Barts' Hb khác	Định lượng Định lượng Định lượng Định lượng Định lượng Định lượng Định lượng
Xác định đột biến gen globin	<i>Đột biến gen β-globin:</i>	Định tính
	-31 A > G	
	-29 A > G	
	-28 A > G	
	Cap+1 A > C	
	Init codon ATG > AGG	
	Codon 8/9 + G	
	Codon 15 TGG > TAG	
	Codon 17 A > T	
	Codon 19 A > G (MaLay)	
	Codon 26 G > A (HbE)	
	Codon 27/28 + C	
	IVS 1-1 G > T	
	IVS 1-5 G > C	
	Codon 41/42 -TTCT	
	Codon 43 G > T	
	Codon 71/72 + A	
	Codon 89/90 - GT	

	Codon 90	G > T	
	Codon 95	+ A	
	IVS 2-1	G > A	
	IVS 2 - 654	C > T	
	Codon 121	G > T	
	<i>Đột biến gen α-globin:</i>		Định tính
	$-\alpha^{3.7}$	Mất 1 đoạn gen	
	$-\alpha^{4.2}$	Mất 1 đoạn gen	
	$-(\alpha)^{20.5kb}$	Mất 2 đoạn gen	
	-- ^{MED}	Mất 2 đoạn gen	
	-- ^{SEA}	Mất 2 đoạn gen	
	-- ^{THAI}	Mất 2 đoạn gen	
	-- ^{PHIL}	Mất 2 đoạn gen	
	$\alpha 1$ codon 14	G > A	
	$\alpha 1$ codon 59 (Hb Adana)	G > A	
	Anti -3.7	Nhân 3 lần gen	
	$\alpha 2$ init cd	T > C	
	$\alpha 2$ codon 19	- G	
	$\alpha 2$ IVS 1	- 5nt	
	$\alpha 2$ codon 59	G > A	
	$\alpha 2$ codon 125 (Hb Qs)	T > C	
	$\alpha 2$ codon 142 (HbCs)	T > C	
	$\alpha 2$ codon 142 (Hb Icaria)	T > A	
	$\alpha 2$ codon 142 (Hb Pakse)	A > T	
	$\alpha 2$ codon 142 (Hb Koya Dora)	A > C	
	$\alpha 2$ poly A-1	ATAAA > AATAAG	
	$\alpha 2$ poly A-2	AATAAAA > AATGAA	

Sinh hóa máu	Sắt	Định lượng
	Ferritin	Định lượng
Nhóm máu (sản phụ)	Rh (D)	Định tính
Nhân khẩu học	Tuổi	Định lượng
	Giới	Định tính
	Tuổi thai	Định lượng
	Tiền sử sinh đẻ (đối với sản phụ)	Định lượng

Nhóm 2: Xét nghiệm MRI đánh giá quá tải sắt tại gan và tim

Xét nghiệm	Chỉ số	Biến
Tổng phân tích tế bào máu ngoại vi	Hb	Định lượng
	MCV	Định lượng
	MCH	Định lượng
	Số lượng tiểu cầu	Định lượng
Phân tích thành phần huyết sắc tố	HbA	Định lượng
	HbA ₂	Định lượng
	HbF	Định lượng
	HbE	Định lượng
	HbH	Định lượng
	Hb Barts'	Định lượng
	Hb khác	Định lượng
Xác định đột biến gen	Đột biến gen α -globin	
	Đột biến gen β -globin	
Sinh hóa máu	Sắt	Định lượng
	Ferritin	Định lượng
	GOT	Định lượng
	GPT	Định lượng
	LH	Định lượng
	FSH	Định lượng

	TSH	Định lượng
	FT4	Định lượng
	PTH	Định lượng
	Testosterone	Định lượng
	HbA1C	Định lượng
Đông máu	Prothrombin	Định lượng
Cộng hưởng từ gan - tim	Gan (LIC)	Định lượng
	Tim (T2* tim)	Định lượng
Điện tâm đồ	Nhịp tim	Định lượng
	Nhận xét	Định tính
Siêu âm tim	Phân suất tổng máu thất trái	Định lượng
	Sức bóp cơ tim thất trái	Định lượng
Siêu âm ổ bụng	Kích thước gan	Định lượng
	Kích thước lách	Định lượng
Điều trị	Thể tích KHC	Định lượng
	Liều lượng thuốc thải sắt Deferoxamin	Định lượng
	Liều lượng thuốc thải sắt Deferipron	Định lượng
	Liều lượng thuốc thải sắt Deferasirox	Định lượng
Nhân khẩu học	Giới	Định tính
	Tuổi	Định lượng
	Tuổi bắt đầu truyền máu	Định lượng

2.2.3. Các bước tiến hành

2.2.3.1. Nhóm 1 làm xét nghiệm xác định đột biến gen globin bằng Strip Assay

(1). Mẫu ADN tế bào dịch ối:

- 292 người (146 cặp vợ chồng) được xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi, phân tích thành phần huyết sắc tố, xác định có ít nhất 1 đột biến gen globin;

- Hỏi tiền sử sinh con và tình trạng con cái hiện tại có bị bệnh thalassemia không.
- Tư vấn về khả năng thai nhi có nguy cơ bị bệnh α -thalassemia hoặc β -thalassemia;
- Chọc hút dịch ối khi thai được 16 tuần – 20 tuần;
- Nuôi cấy tế bào dịch ối và tách chiết ADN;
- Xét nghiệm xác định đột biến gen globin bằng bộ kit α -globin Strip Assay hoặc β -globin Strip Assay;
- Khẳng định lại kết quả bằng PCR đơn cho tất cả các mẫu. Một số mẫu được khẳng định lại bằng giải trình tự ADN;
- Khẳng định lại kết quả bằng PCR đơn trên máu một số trẻ sau sinh.

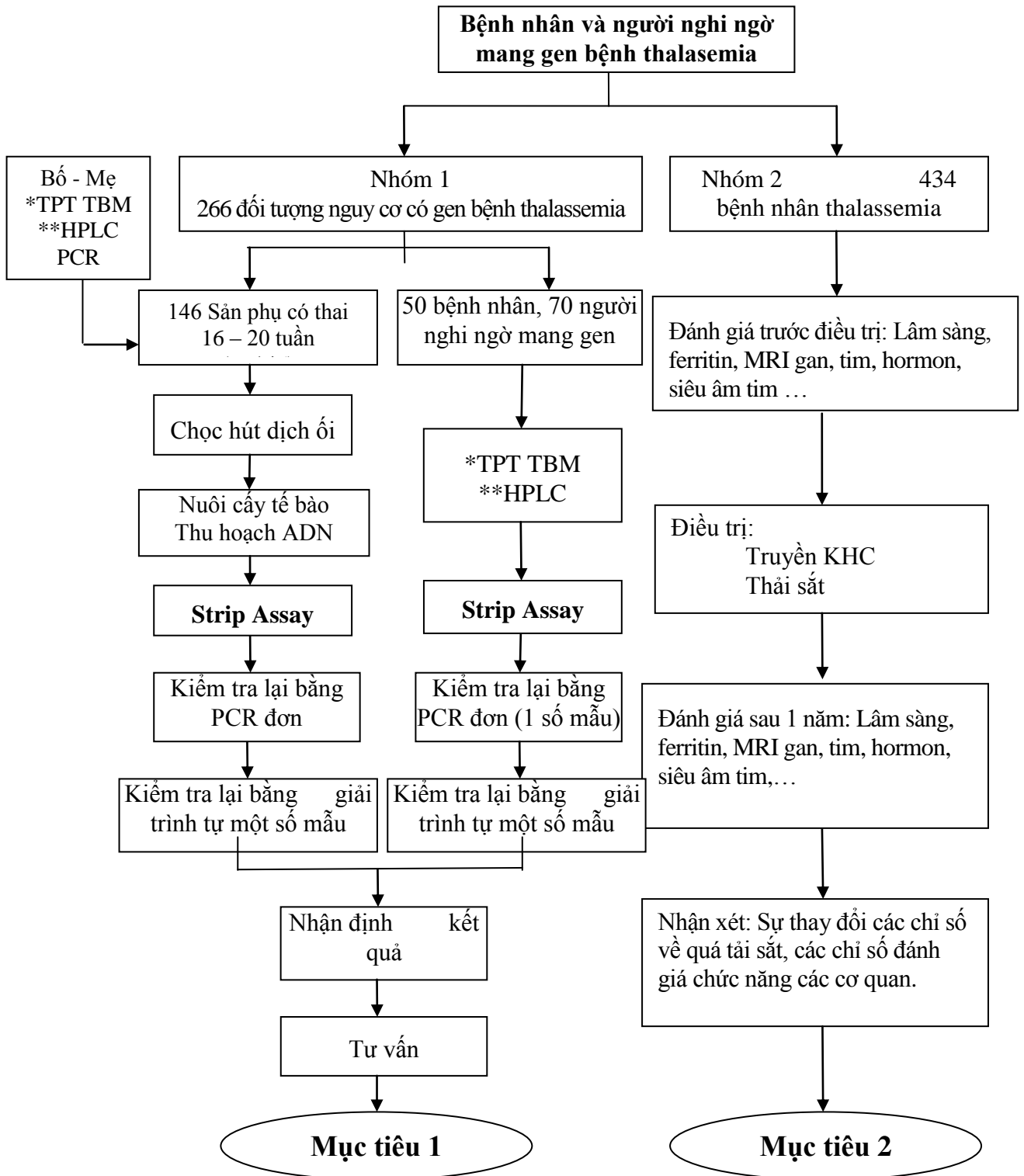
(2). *Người bệnh và người nghi ngờ mang gen bệnh thalassemia*

- Khám lâm sàng, hỏi tiền sử bệnh, tiền sử gia đình;
- Xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi, phân tích thành phần huyết sắc tố;
- Xét nghiệm xác định đột biến gen bằng bộ kit α -globin Strip Assay hoặc β -globin Strip Assay.

2.2.3.2. *Nhóm 2 làm xét nghiệm chụp cộng hưởng từ đánh giá tình trạng quá tải sắt ở bệnh nhân thalassemia*

- Khám lâm sàng, hỏi bệnh, tiền sử bệnh;
- Xét nghiệm: Tổng phân tích tế bào máu ngoại vi, sinh hóa máu, phân tích thành phần huyết sắc tố, xác định đột biến gen globin, siêu âm ổ bụng, điện tâm đồ, siêu âm tim. Xét nghiệm cộng hưởng từ gan, tim để xác định mức độ sắt trong tổ chức gan, tim;
- Điều trị: truyền máu, thải sắt. Ghi chép lại tất cả các đợt điều trị;
- Đánh giá sau điều trị: thực hiện lại các xét nghiệm ở trên.

SƠ ĐỒ NGHIÊN CỨU



Hình 2.1. Sơ đồ nghiên cứu theo mục tiêu

Chú thích: *TPT TBM: Tổng phân tích tế bào máu ngoại vi
 **HPLC: Xác định thành phần Hb bằng phương pháp sắc ký lỏng cao áp

2.3. Các tiêu chuẩn đánh giá, kỹ thuật và phương pháp

2.3.1. Các tiêu chuẩn chẩn đoán

2.3.1.1. Tiêu chuẩn chẩn đoán thể bệnh, mức độ bệnh thalassemia

Theo hướng dẫn của Liên đoàn thalassemia quốc tế và hướng dẫn chẩn đoán điều trị một số bệnh lý huyết học của Bộ Y tế 2016 [11],[12],[93].

a. Chẩn đoán thể bệnh

Chẩn đoán thể bệnh dựa vào thành phần huyết sắc tố và xác định đột biến gen globin.

- α -thalassemia: thành phần huyết sắc tố có Hb Bart's (γ_4), HbH (β_4), xét nghiệm ADN có đột biến gen α -globin.
- β -thalassemia: thành phần huyết sắc tố có tỷ lệ HbF ($\alpha_2\gamma_2$) tăng, HbA2 ($\alpha_2\delta_2$) tăng và xét nghiệm ADN có đột biến gen β -globin.
- β -thalassemia phối hợp α -thalassemia: thành phần huyết sắc tố có tỷ lệ HbF tăng, HbA2 tăng và xét nghiệm ADN có cả đột biến gen β -globin và gen α -globin.
- Thalassemia có thể phối hợp với các huyết sắc tố bất thường như: β -thalassemia với HbE (thành phần huyết sắc tố có HbF, HbE) (do đột biến Cd26 phối hợp đột biến gây β -thalassemia); α -thalassemia với HbCs (thành phần huyết sắc tố có HbH, HbCs) (do đột biến mất đoạn α -globin phối hợp đột biến điểm HbCs) [3],[5],[6],[10].

b. Chẩn đoán mức độ nặng nhẹ

- *Mức độ rất nặng*: Chỉ gặp ở α -thalassemia (Hb Bart's)
 - + Lâm sàng: biểu hiện sớm trên thai nhi với các dấu hiệu phù rau thai, suy tim, gan lách to, chậm phát triển não... và thường tử vong trước khi sinh, sản phụ có nguy cơ đa ối, thiếu ối, tiền sản giật, đẻ non [3].
 - + Cận lâm sàng: máu thai nhi có thành phần Hb Bart's chiếm trên 85%; xét nghiệm ADN có đột biến mất 4 gen α -globin, kiểu đột

biến (--/--) như đồng hợp tử $--^{SEA}/--^{SEA}$, $--^{THAI}/--^{SEA}$...
[3],[5],[6],[10],[24],[25].

- *Mức độ nặng:*

- + Lâm sàng: Thiếu máu nặng, thường biểu hiện sớm ở trẻ dưới 2 tuổi và có nhiều biến chứng, thường có lách to độ III.
- + Cận lâm sàng: Hb < 70 g/L;
 - α -thalassemia: đột biến làm mất 3 gen alpha trong đó có 1 đột biến điểm kiểu gen ($--/\alpha^T\alpha$ hoặc $--/\alpha\alpha^T$), phổ biến là: $--^{SEA}/\alpha^{Cs}\alpha$; $--^{SEA}/\alpha^{Qs}\alpha$... [3],[5],[6],[10],[24],[25].
 - β -thalassemia: kiểu gen β^0/β^0 ; β^+/β^+ , β^0/β^+ , β^0/β^E [3],[5],[6],[24].
 - β -thalassemia/HbE: kiểu gen β^0/β^E [3],[5],[6],[10].

- *Mức độ trung bình:*

- + Lâm sàng: Thiếu máu vừa, triệu chứng thường xuất hiện khi trẻ trên 2 tuổi, lách to độ II, III.
- + Cận lâm sàng: Hb trong khoảng 70 - 100 g/l;
 - α -thalassemia (HbH): có Hb Bart's (<25% ở thời kỳ sơ sinh), và hoặc có HbH, xét nghiệm ADN có 2 đột biến làm mất 3 gen, kiểu gen ($--/-\alpha$), phổ biến là $--^{SEA}/\alpha^{3.7}\alpha$; $--^{SEA}/\alpha^{4.2}\alpha$ [3],[5],[6],[10],[24],[25].
 - β -thalassemia: kiểu gen β^+/β^+ , β^+/β^0 , $\beta^+/(\alpha\beta^0)$ [3],[5],[6],[10].
 - β -thalassemia/HbE: kiểu gen β^+/β^E , β^0/β^E [3],[5],[6],[10].

- *Mức độ nhẹ*

- + Lâm sàng: Thiếu máu nhẹ, triệu chứng rõ hơn khi bệnh nhân có kèm theo các bệnh lý khác như nhiễm trùng, chấn thương, có thai. Lách to độ I hoặc không to.
- + Cận lâm sàng: Hb >100 g/l;

- α -thalassemia: có Hb Bart's (<12% ở thời kỳ sơ sinh) và hoặc HbH, xét nghiệm ADN có 2 đột biến làm mất 3 gen, kiểu gen ($--/\alpha$), phổ biến là $--^{SEA}/\alpha^{3.7}$; $--^{SEA}/\alpha^{4.2}$... [5],[6],[10],[25],[26].
- β -thalassemia: kiểu gen β^0/β , β^+/β^+ [3] [5], [6],[10].
- β -thalassemia/HbE : kiểu gen: β^+/β^E [3],[5],[6],[10].

Xác định kiểu gen dựa trên kiểu đột biến theo hướng dẫn của Liên đoàn Thalassemia quốc tế (phụ lục 1) [94].

Đột biến gen globin không phải là tiêu chí duy nhất chẩn đoán mức độ. Các nghiên cứu cho thấy mối tương quan giữa đột biến gen và biểu hiện lâm sàng không hoàn toàn chặt chẽ, do đó để chẩn đoán mức độ nặng, nhẹ của bệnh cần phải dựa vào triệu chứng lâm sàng, xét nghiệm và xem xét tính cá thể của người bệnh [25],[26],[27],[28].

Cách tính điểm để phân loại mức độ bệnh dựa vào tiêu chí lâm sàng và xét nghiệm [12],[27].

Bảng 2.1. Cách tính điểm và phân loại mức độ bệnh thalassemia

Tiêu chí	Giá trị	Điểm	Giá trị	Điểm	Giá trị	Điểm
Hb cơ bản (g/l)	> 70	0	60 - 70	1	< 60	2
Tuổi có triệu chứng	> 10	0	2 - 10	0,5	< 2	1
Tuổi bắt đầu truyền máu	> 10	0	4 - 10	1	< 4	2
Nhu cầu truyền máu	Không/hiếm	0	Thỉnh thoảng	1	Thường xuyên	2
Kích thước lách to thêm (cm)	< 4	0	4 - 10	1	> 10	2
Chậm phát triển thể chất	-	0	+/-	0,5	+	1

Mức độ nhẹ: < 4 điểm;

Mức độ trung bình: 4 – 7 điểm;

Mức độ nặng: > 7 điểm.

c. *Chẩn đoán mức độ phụ thuộc truyền máu*

Năm 2013, Liên đoàn thalassemia quốc tế đã hướng dẫn phân loại thalassemia thành 2 nhóm là thalassemia phụ thuộc truyền máu và thalassemia không phụ thuộc truyền máu [11].

- *Thalassemia phụ thuộc truyền máu* (Transfusion Dependent Thalassemia - TDT): bệnh nhân cần phải truyền máu định kỳ, nếu không được truyền máu định kỳ bệnh nhân sẽ có nhiều biến chứng và giảm tuổi thọ. Nhóm này bao gồm β -thalassemia nặng, β -thalassemia/HbE nặng, α -thalassemia nặng, Hb Bart's (nếu còn sống) [11].

- *Thalassemia không phụ thuộc truyền máu* (Non Transfusion Dependent Thalassemia - NTDT): bệnh nhân không phải truyền máu định kỳ để duy trì sự sống, tuy nhiên họ có thể phải truyền máu trong những điều kiện cụ thể. Nhóm này bao gồm β -thalassemia trung bình và nhẹ, β -thalassemia/HbE trung bình và nhẹ, α -thalassemia trung bình và nhẹ [11],[12],[28].

Bảng 2.2. Tiêu chuẩn phân loại theo truyền máu

Đặc điểm	Phụ thuộc truyền máu	Không phụ thuộc truyền máu
Tuổi xuất hiện triệu chứng	< 2	> 2
Hb cơ bản (g/L)	< 70	70 - 100
Gan/lách to	To nhiều	To vừa – nhiều
Chậm phát triển thể chất/ chậm dậy thì	(+++)/(++++)	(-) đến (++)
Thiếu máu ảnh hưởng đến cuộc sống hàng ngày	Có	Không
Biến dạng xương	Có	Không hoặc nhẹ
Kiểu tổn thương gen	Nặng * Ví dụ: β^0/β^0	Nhẹ * Ví dụ: β^+/β^+
Phối hợp tổn thương gen làm bệnh nhẹ hơn	Không	Có * Ví dụ: $\beta^+(\alpha^0\beta^0)$
Phối hợp tổn thương gen làm bệnh nặng hơn	Có * Ví dụ: $\beta^+(\alpha\alpha\alpha\beta^0)$	Không

(*): theo tác giả

2.3.1.2. Tiêu chuẩn chẩn đoán quá tải sắt

Theo sách hướng dẫn chẩn đoán và điều trị một số bệnh lý huyết học của Bộ Y tế năm 2016, Liên đoàn thalassemia quốc tế [10],[93],[102],[104].

Bảng 2.3. Chỉ số ferritin huyết thanh theo các mức độ quá tải sắt

Ferritin huyết thanh (ng/ml)	Mức độ quá tải sắt
≤ 600	Bình thường
601 - 1000	Nhẹ
1001 - 2500	Trung bình
> 2500	Nặng

Bảng 2.4. Chỉ số LIC theo các mức độ quá tải sắt tại gan

Nồng độ sắt trong gan (LIC) (mg sắt/g gan khô)	Mức độ quá tải sắt tại gan
≤ 2	Bình thường
$> 2 - 7$	Nhẹ
$> 7 - 15$	Trung bình
> 15	Nặng

(LIC: Liver Iron concentration - Nồng độ sắt trong gan)

Bảng 2.5. Chỉ số T2* tim theo các mức độ quá tải sắt tại tim

MRI T2* tim (ms)	Mức độ quá tải sắt tại tim
> 20	Bình thường
$>15 - 20$	Nhẹ
$> 10 -15$	Trung bình
≤ 10	Nặng

2.3.1.3. Tiêu chuẩn chẩn đoán một số biến chứng

a. Biến chứng tim mạch:

- Suy tim: Bệnh nhân được chẩn đoán suy tim khi có 2 tiêu chuẩn chính hoặc 1 tiêu chuẩn chính kèm 2 tiêu chuẩn phụ [95]

Bảng 3.6. Các tiêu chuẩn chẩn đoán suy tim

Tiêu chuẩn chính	Tiêu chuẩn phụ
Cơn khó thở kịch phát về đêm hoặc khó thở phải ngồi	Phù cổ chân
Tĩnh mạch cổ nổi	Ho về đêm
Ran ở phổi	Khó thở gắng sức
Tim to	Gan to
Phù phổi cấp	Tràn dịch màng phổi
Tiếng T3	Tim nhanh (> 120 lần /phút)
Phản hồi gan tĩnh mạch cổ (+)	
Giảm 4 - 5 kg sau 5 ngày điều trị suy tim	

- Phân độ suy tim theo NYHA [96]:

Độ I: Bệnh nhân có bệnh tim nhưng không có triệu chứng cơ năng nào, vẫn sinh hoạt và hoạt động thể lực gần như bình thường.

Độ II: Các triệu chứng cơ năng chỉ xuất hiện khi gắng sức nhiều. Bệnh nhân bị giảm nhẹ các hoạt động về thể lực.

Độ III: Các triệu chứng cơ năng xuất hiện kể cả khi gắng sức rất ít, làm hạn chế nhiều các hoạt động thể lực.

Độ IV: Các triệu chứng cơ năng tồn tại một cách thường xuyên, kể cả lúc bệnh nhân nghỉ ngơi không làm gì cả.

- Điện tâm đồ: Bệnh nhân được chẩn đoán có rối loạn nhịp tim khi có bất kì 1 loại rối loạn nhịp nào trên điện tâm đồ.

- Giảm sức co bóp cơ tim: Khi EF < 55% hay FS < 27% [97].

b. *Biến chứng nội tiết*: theo tác giả Đỗ Trung Quân 2015 [100]

Tuyến	Hormon	Đối tượng	Giá trị bình thường
Tuyến yên	LH	Nam	0,8 - 6 U/l
	FSH	Nam	1,6 - 12U/l
	TSH		0,5 - 5 mU/l
Sinh dục	Testosterone (Nam)	15 - 16 tuổi	100 - 1000 ng/dl
		17 - 18 tuổi	300 – 1200 ng/dl
		≥19 tuổi	240 - 950 ng/dl
		> 30 tuổi	Mỗi năm giảm 1%
	Estradiol		> 30 pg/ml
Tuyến Giáp	FT4		11 - 23 pmol/l
Cận giáp	PTH		1,6 - 6,9 pg/ l
Tụy nội tiết	HbA1C		4,6 - 6,4%

- Đái tháo đường: khi có 1 trong 3 dấu hiệu sau: Glucose huyết thanh khi đói > 7 mmol/l; Glucose huyết thanh (thời điểm bất kỳ) > 11,1 mmol/l; HbA1C > 6,5%.

- Tiền đái tháo đường: HbA1C trong khoảng 5,7 - 6,4%.

- Suy tuyến giáp: Tại tuyến: FT4 < 11 pmol/l, TSH tăng.

- Suy tuyến giáp do tuyến yên: FT4 < 11 pmol/l, TSH bình thường hoặc giảm.

c. *Biến chứng xơ gan*: theo Lin ZH, Xin YN (2011) [101].

Đánh giá gan xơ hóa và xơ gan dựa vào chỉ số Aspartate amino transferase to platelet ratio index (APRI)

$$APRI = [(AST / ULN AST) \times 100] / \text{tiểu cầu (G/l)}$$

ULN AST: Upper limit of normal AST (giới hạn cao bình thường)

APRI < 0,7: Bình thường

APRI: 0,7 - 1,0: Gan xơ hóa

APRI > 1: Xơ gan

2.3.1.4. Tiêu chuẩn đánh giá hiệu quả điều trị thải sắt

Theo hướng dẫn của Liên đoàn thalassemia quốc tế, ferritin huyết thanh, LIC và T2* tim đều có thể được dùng là chỉ số theo dõi hiệu quả điều trị thải sắt. Do chỉ số ferritin huyết thanh có thể không phản ánh chính xác tình trạng quá tải sắt nếu bệnh nhân có kèm theo các bệnh lý khác, T2*tim chỉ thay đổi ở bệnh nhân có quá tải sắt rất nặng (tỷ lệ bệnh nhân này không cao), vì lý do này mà hiện nay LIC là chỉ số có ý nghĩa nhất để đánh giá, theo dõi hiệu quả điều trị thải sắt ở bệnh nhân thalassemia [11].

Đánh giá hiệu quả thải sắt sau 1 năm dựa theo tiêu chuẩn của tác giả Ali Taher trong nghiên cứu ESCALATOR [91].

- *Thải sắt hiệu quả khi:*

- + LIC giảm ≥ 3 mg/g gan khô sau 1 năm, đối với các trường hợp có chỉ số LIC ban đầu > 10 mg/g gan khô;
- + LIC giảm và trong khoảng 1 - 7 mg sắt/g gan khô, đối với các trường hợp có chỉ số LIC ban đầu 2 -10 mg/gan khô.

- *Không thay đổi (duy trì):*

- + LIC giảm được < 3 mg sắt/g gan khô, đối với các trường hợp có chỉ số LIC ban đầu > 10 mg/g gan khô
- + LIC không giảm, đối với các trường hợp có chỉ số LIC ban đầu 2 -10 mg/gan khô.

- *Tình trạng quá tải sắt nặng lên:*

- + Chỉ số LIC tăng lên sau điều trị.

2.3.2. Các phương pháp và kỹ thuật xét nghiệm

2.3.2.1. Phương pháp chẩn đoán trước sinh

Chọc hút dịch ối: khi thai nhi được từ 16 đến 20 tuần tuổi.

- Chọc ối qua thành bụng sản phụ dưới hướng dẫn của siêu âm, lấy 10ml dịch ối (theo quy trình của Trung tâm Y dược học – Học viện Quân y).

- Nuôi cấy tế bào dịch ối, thu hoạch và tách ADN (theo quy trình của khoa Di truyền - Sinh học phân tử, Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương, được trình bày ở phụ lục 3).

- Xét nghiệm di truyền sinh học phân tử bằng α -globin Strip Assay và β -globin Strip Assay (theo quy trình của khoa Di truyền - Sinh học phân tử, Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương, được trình bày ở phụ lục 4 và phụ lục 5).

2.3.2.2. Kỹ thuật xét nghiệm globin Strip Assay

- Nguyên lý kỹ thuật: được phát triển dựa trên nguyên lý của kỹ thuật lai ADN ngược. Sử dụng 2 thanh teststrip có đính nhiều đầu dò để phát hiện đột biến và xác định tính đồng hợp/dị hợp tử của 21 đột biến phổ biến nhất trong khu vực Đông Nam Á.

- Thanh test có chứa sẵn đầu dò để phát hiện 21 đột biến α -globin hoặc 22 đột biến β -globin, có thể phát hiện được đột biến đồng hợp tử hay dị hợp tử.

- Tên bộ hóa chất xét nghiệm: β -Globin StripAssay SEATM và α -Globin StripAssayTM.

- Hãng sản xuất: ViennaLab Diagnostics GmbH - Áo.

- Các bước thực hiện: theo quy trình kỹ thuật của khoa Di Truyền và Sinh học phân tử, Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương (phụ lục 4 - 5).

- *Yêu cầu mẫu bệnh phẩm*

- + Bệnh phẩm là 2 ml máu toàn phần chống đông EDTA;
- + ADN đã tách từ tế bào dịch ối.

- *Chuẩn bị*

- Hóa chất sinh phẩm; Thiết bị; Dụng cụ.
- *Quy trình thực hiện sơ bộ có các bước sau:*
 - Bước 1: Tách ADN (từ máu toàn phần);
 - Bước 2: Điện di kiểm tra ADN;
 - Bước 3: Thực hiện phản ứng PCR;
 - Bước 4 : Điện di kiểm tra sản phẩm PCR;
 - Bước 5: Các bước lai ADN:
 - + Lai ADN - 1 Test strip cho 1 mẫu;
 - + Rửa teststrip (45°C; máy lắc ổn nhiệt);
 - + Phát hiện màu (nhiệt độ phòng).
 - Bước 6: Phân tích kết quả.

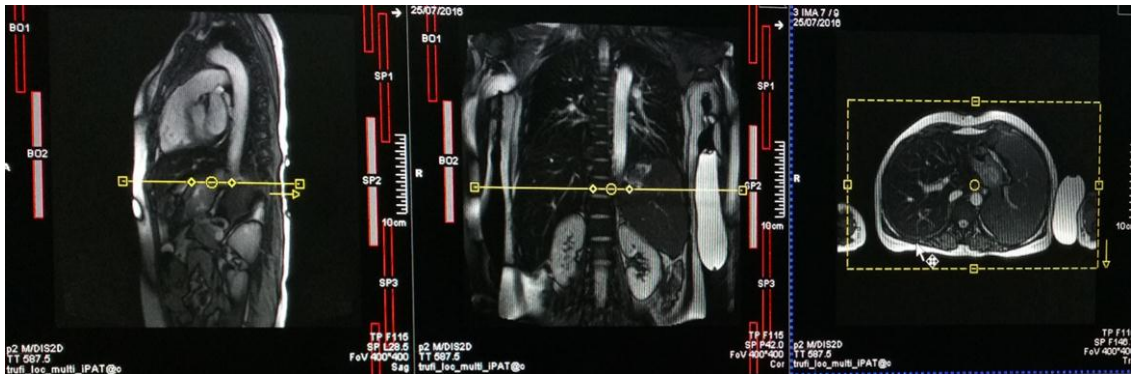
Quy trình chi tiết trong phụ lục 1.

2.3.2.3. Kỹ thuật chụp cộng hưởng từ đánh giá sắt trong gan và tim

Quy trình chụp cộng hưởng từ đánh giá sắt trong gan và tim được thực hiện tại khoa chẩn đoán hình ảnh, bệnh viện Bạch Mai.

- Phương tiện, thiết bị:
 - Máy Avanto 1.5 Tesla của hãng Siemens (Đức).
- Chuẩn bị bệnh nhân:
 - + Giải thích cho bệnh nhân để giúp tránh những lo lắng không cần thiết cho bệnh nhân;
 - + Hướng dẫn bệnh nhân thở đúng theo hiệu lệnh;
 - + Loại bỏ các vật liệu kim loại: điện thoại di động đồng hồ, kẹp tóc...;
- Dùng coil toàn thân 6 kênh thu tín hiệu.
- Kỹ thuật tiến hành chụp cộng hưởng từ gan

Định vị theo ba mặt phẳng ngang (axial), đứng ngang (coronal) và đứng dọc (sagittal). Cắt trên 1 mặt cắt, mặt phẳng ngang qua gan tại vị trí có diện tích lớn nhất với các thời gian phản hồi (TE) khác nhau (hình 2.2).



Hình 2.1. Ảnh định vị gan theo trục sagittal và coronal để lấy lát cắt axial giữa gan.

Các chỉ số kỹ thuật đo sắt tại gan trên T2:*

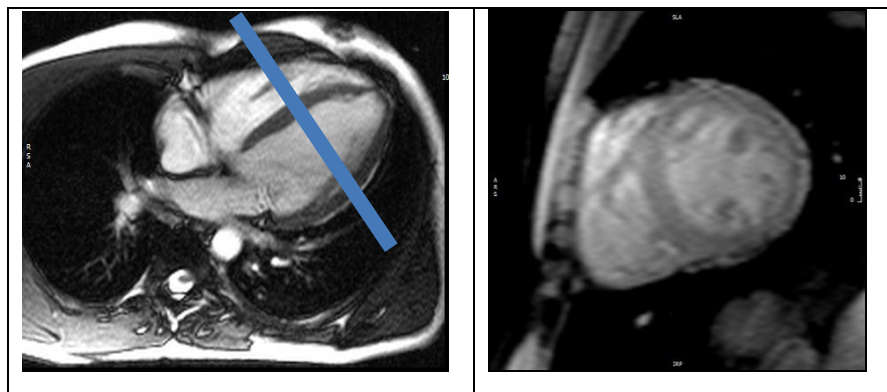
TE (ms): 1,3- 2,4- 3,4- 4,6- 5,7- 6,9- 7,9- 9,1- 12,2- 11,4 – 12,4– 13,6;

ECHO: 12; TR: 200 ms; Số lát cắt: 1; Độ dày lát cắt: 10 mm; Ma trận: 128 x N (N ≤ 128); Góc lật: 20; FOV: 300-400 mm.

- Kỹ thuật tiên hành chụp cộng hưởng từ tim

Định vị theo ba mặt phẳng ngang (axial), đứng ngang (coronal) và đứng dọc (sagittal), đứng ngang qua ngực bụng, 4 buồng, 2 buồng, trực ngắn tim, với chuỗi xung True FISH (T2W).

Chụp ảnh trực ngắn giữa tim (được định vị vuông góc với vách liên thất trên ảnh 4 buồng) với các thời gian phản hồi (TE) khác nhau bằng chuỗi xung HASTE “back blood” (hình 2.3).



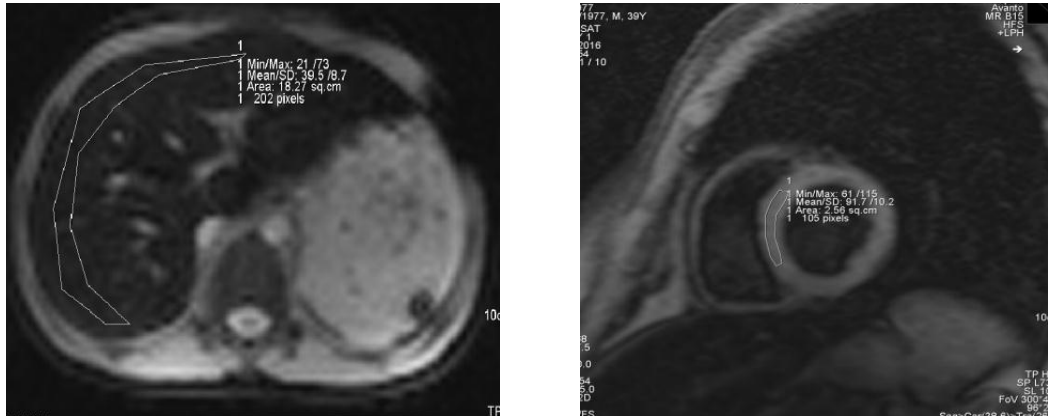
Hình 2.2. Ảnh định vị 4 buồng tim và vị trí chụp theo trục ngắn giữa tim

- Các chỉ số kỹ thuật đo sắt tại tim trên T2*:

TE (ms): 1,8- 3,4- 5,2- 6,9- 8,6- 10,4-12,1- 13,8- 15,6- 17,3;

ECHO: 10; TR: 600 ms; Số lát cắt: 1; Độ dày lát cắt: 10 mm; Ma trận: 96 x 256; Góc lật: 20; FOV: 300-400 mm.

Phân tích kết quả



Hình 2.3. Đo trên ROI cùng vị trí như nhau trên tất cả các TE

Đánh giá nồng độ sắt tại mô tổ chức trên cộng hưởng từ

T2*: Đại diện cho thời gian phản hồi một mô (TE) giảm gấp đôi tín hiệu, có giá trị tỷ lệ nghịch với nồng độ sắt trong mô, đơn vị đo là ms.

$R2^* = 1000/T2^*$, đơn vị đo là Hz (tỷ lệ thuận với nồng độ sắt trong mô)

Công thức tính giá trị T2* với đơn vị m/s [14],[86]

$$S(TE) = K.e^{TE \times 1/T2^*}$$

K: Là hằng số

S: Cường độ tín hiệu của mô tại các thời điểm TE, đơn vị đo là Hz.

TE: Các thời điểm TE, đơn vị đo là ms.

Đánh giá nồng độ sắt tại gan bằng cộng hưởng từ

Đo tín hiệu ROIs khoảng tối thiểu 1cm², trong nhu mô gan, tránh màng phổi, tránh mạch máu (tĩnh mạch gan, tĩnh mạch cửa) tại các thời điểm TE khác

nhau. Áp dụng công thức tính nồng độ sắt trong gan theo kết quả nghiên cứu của tác giả Jane S. Hankins và các cộng sự năm 2009 [87].

$$\text{LIC} = (-454,84 + (28,02 \times \text{R2}^*)) / 1000 \text{ (mg sắt/g gan khô)}$$

LIC: Liver Iron Concentration – Nồng độ sắt trong gan

Đánh giá nồng độ sắt tại tim bằng cộng hưởng từ

Đo tín hiệu ROIs tại vị trí vách liên thất với các thời điểm TE khác nhau. Vì nồng độ sắt ở vách liên thất có thể đại diện cho sắt ở toàn bộ tim [86]. Áp dụng công thức tính nồng độ sắt trong tim theo kết quả nghiên cứu của tác giả John-Paul Carpenter và các cộng sự năm 2011 [86].

$$\text{HIC} = 45 (\text{T2}^*)^{-1,22} \text{ (mg sắt/g tim khô)}$$

HIC: Heart Iron Concentration - Nồng độ sắt trong tim.

Nhận định kết quả

Dựa vào chỉ số T2* gan, R2* gan và LIC để xác định mức độ quá tải sắt tại gan [83],[87],[102],[103].

Bảng 2.6. Các mức độ quá tải sắt trong gan

Chỉ số	Bình thường	Nhẹ	Trung bình	Nặng
T2* (ms)	≥ 11,4	3, 8 - 11,4	1,38 - 3,8	< 1,8
R2* (ms)	< 88	88 - 263	263 - 555	> 555
LIC (mg/g)	< 2	2 - 7	7 - 15	> 15

Dựa vào chỉ số T2* tim, R2* tim và HIC để xác định mức độ quá tải sắt tại tim [14],[104].

Bảng 2.7. Các mức độ quá tải sắt trong tim

Chỉ số	Bình thường	Nhẹ	Trung bình	Nặng
T2* (ms)	> 20	15 - 20	10 - 15	< 10
R2* (ms)	< 50	50 - 66,5	66,5 - 100	> 100
HIC (mg/g)	< 1,16	1,16 - 1,65	1,65 - 2,71	> 2,71

2.3.2.4. Các kỹ thuật xét nghiệm khác

- Tổng phân tích tế bào máu ngoại vi (phân tích các chỉ số Hb, MCV, MCH) được thực hiện tại khoa Tế bào tổ chức học, Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương. Lấy máu tĩnh mạch khi bệnh nhân mới vào viện, làm trên máy đếm tế bào tự động ADVIA 2120i của hãng Siemens.

- Phân tích thành phần huyết sắc tố bằng phương pháp HPLC được thực hiện tại khoa Miễn dịch, Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương. Lấy máu tĩnh mạch khi bệnh nhân vào viện lần đầu hoặc cách lần truyền máu trước 4 tháng, xét nghiệm trên máy Ultra2, hãng Trinity Biotech, Mỹ.

- Các xét nghiệm hóa sinh được thực hiện tại khoa Sinh hóa, Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương. Lấy máu tĩnh mạch vào buổi sáng (8 giờ), lúc đói. Các chỉ tiêu sinh hóa thông thường được xét nghiệm trên máy Olympus AU 2007 (Beckman Counter, Mỹ). Các chỉ tiêu hormon được xét nghiệm trên máy UniCel DXI 800 (Beckman Counter, Mỹ).

- Siêu âm tim được thực hiện tại Trung tâm tim mạch, Bệnh viện E, trên máy Philips HD11XE.

- Điện tâm đồ được làm tại Trung tâm tim mạch Bệnh viện E.

2.4. Xử lý số liệu

Các số liệu trên được xử lý theo phương pháp thống kê y học trên chương trình SPSS, excell.

Mô tả kết quả:

- Các biến số định lượng được trình bày theo giá trị trung bình và độ lệch chuẩn ($X \pm SD$)
- Các biến số định tính được trình bày theo tỷ lệ %.

Đánh giá sự khác biệt:

- Đối với biến định tính sử dụng test χ^2 . Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- Đối với các biến định lượng sử dụng test t-student. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- Đánh giá yếu tố nguy cơ sử dụng tỷ suất chênh OR, 95% CI khoảng tin cậy.

$0,9 < r $	$0,8 < R^2$	Tương quan rất chặt chẽ
$0,7 < r < 0,9$	$0,5 < R^2 < 0,8$	Tương quan chặt chẽ
$0,5 < r < 0,7$	$0,25 < R^2 < 0,5$	Tương quan khá chặt chẽ
$0,3 < r < 0,5$	$0,1 < R^2 < 0,25$	Tương quan mức trung bình
$ r < 0,3$	$R^2 < 0,1$	Tương quan ở mức thấp

Mối tương quan giữa hai biến định lượng được đánh giá bằng hệ số r và p.

2.5. Đạo đức nghiên cứu

- Được sự đồng ý của người tham gia nghiên cứu hoặc của người giám hộ hợp pháp đối với người tham gia nghiên cứu < 18 tuổi;
- Mọi thông tin thu thập được đảm bảo bí mật, chỉ thông báo cho đối tượng nghiên cứu, chỉ phục vụ mục đích nghiên cứu;
- Nghiên cứu được sự đồng ý và phê duyệt của lãnh đạo Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương, trung tâm Thalassemia;
- Kết quả nghiên cứu được phản hồi lại cho Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương, trung tâm Thalassemia;
- Từ kết quả nghiên cứu, lựa chọn một số thông tin cần thiết và có ích cho việc điều trị và tư vấn cho người tham gia nghiên cứu.

2.6. Thời gian nghiên cứu

Thời gian: từ tháng 10/2013 - 12/2016.

2.7. Địa điểm nghiên cứu

- Trung tâm Thalassemia, các phòng xét nghiệm - Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương;
- Khoa chẩn đoán hình ảnh, bệnh viện Bạch Mai;
- Trung tâm tim mạch bệnh viện E.

CHƯƠNG 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Xét nghiệm phát hiện đột biến gen globin bằng Globin Strip Assay

3.1.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Bảng 3.1. Đặc điểm đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu	α -globin Strip Assay	β -globin Strip Assay	Tổng cộng
Chẩn đoán trước sinh	46	100	146
Bệnh nhân thalassemia	16	34	50
Người nghi ngờ mang gen bệnh	41	29	70
Tổng cộng	103	163	266

Nhận xét: Có 266 trường hợp làm xét nghiệm Globin Strip Assay trong đó có 146 trường hợp chẩn đoán trước sinh bằng tế bào dịch ối, 50 bệnh nhân thalassemia và 70 người nghi ngờ mang gen bệnh thalassemia. 103 trường hợp sử dụng bộ kit α -globin Strip Assay để phát hiện đột biến gen α -globin và 163 trường hợp sử dụng bộ kit β -globin Strip Assay để phát hiện đột biến gen β -globin.

Bảng 3.2. Đặc điểm chung của nhóm bệnh nhân thalassemia

Chỉ số	Thể bệnh			Chung
	β -thal	β -thal/HbE	α -thal	
Số lượng	14	20	16	50
Độ tuổi	10,8 \pm 11,1	18,3 \pm 12,4	17,3 \pm 11,9	15,5 \pm 12,1
Nam : nữ	6 : 8	9 : 11	6 : 10	21 : 29
Hb (g/l) X \pm SD	71,9 \pm 15,4	77,5 \pm 16,1	86,9 \pm 18,5	78,9 \pm 17,4
HbA (%)	48,5 \pm 41,4	30,0 \pm 25,0	85,5 \pm 8,0	
HbA ₂ (%)	3,5 \pm 1,2	4,0 \pm 3,6	1,6 \pm 0,8	
HbE (%)	0	43,0 \pm 19,0	0	
HbF (%)	54,4 \pm 40,6	28,0 \pm 17,8	3,4 \pm 0	
HbH (%)			14,6 \pm 7,6	
HbCs (%)			2,3 \pm 0,4	

Nhận xét: Trong 50 bệnh nhân, có 21 bệnh nhân nam, 29 bệnh nhân nữ. Nhóm bệnh nhân β -thalassemia/HbE và α -thalassemia có độ tuổi và lượng Hb trung bình cao hơn nhóm bệnh nhân β -thalassemia.

Thành phần huyết sắc tố ở nhóm bệnh nhân β -thalassemia có tỷ lệ HbF trung bình cao là 54,4%. Nhóm bệnh nhân β -thalassemia/HbE có tỷ lệ HbE trung bình là 43,0%. Nhóm bệnh nhân α -thalassemia có tỷ lệ HbH trung bình là 14,6 %.

Bảng 3.3. Đặc điểm chung của người nghi mang gen bệnh thalassemia

Chỉ số	Thể bệnh			Chung
	β -thal	HbE	α -thal	
Số lượng	26	3	41	70
Độ tuổi trung bình	28,9 ± 11,9	29,3 ± 3,5	31,8 ± 15,5	30,7 ± 13,9
Nam:nữ	10 : 16	2 : 1	19 : 22	31 : 39
Hb (g/l) X ± SD	115,0 ± 20,8	125,7 ± 22,7	126,6 ± 18,9	122,3 ± 20,2
HbA (%)	92,5 ± 4,8	73,1 ± 4,2	97,7 ± 0,5	
HbA ₂ (%)	5,2 ± 0,7	2,5 ± 1,5	2,2 ± 0,2	
HbE (%)	0	24,3 ± 1,3	0	
HbF (%)	6,2 ± 7,6	2,4 ± 1,8	2,6 ± 0,3	

Nhận xét: Có 70 người nghi mang gen bệnh huyết sắc tố, 31 là nam và 39 là nữ với độ tuổi trung bình là 30,7. Không có sự khác biệt về giới tính và độ tuổi của 3 nhóm. Lượng Hb trung bình của người nghi ngờ mang gen bệnh thalassemia là 122,3 g/l.

Nhóm nghi ngờ mang gen α -thalassemia có tỷ lệ các thành phần Hb trong giới bình thường với HbA trung bình là 97,6% và HbA₂ trung bình là 2,2%.

Nhóm β -thalassemia có tăng tỷ lệ HbA₂ trung bình là 5,2% và HbF là 6,2%.

Nhóm bệnh huyết sắc tố E có tỷ lệ HbE trung bình là 24,3%.

Bảng 3.4. Đặc điểm về tiền sử sinh đẻ của sản phụ

Tiền sử sinh đẻ		Số trường hợp (n)	Tỷ lệ (%)
Chưa từng sinh con		19	13,0
Đã từng sinh con (n=127)	Có con bị bệnh	113	77,4
	Con bị phù thai	10	6,9
	Con không bệnh	4	2,7
Tổng cộng		146	100

Nhận xét: Trong 146 sản phụ tham gia chẩn đoán trước sinh, 123 sản phụ đã từng có con bị bệnh (84,3%), chỉ có 19 sản phụ chưa từng sinh con (12,9%) và 4 sản phụ đã sinh con khỏe mạnh (2,7%).

Bảng 3.5. Các kiểu gen bệnh của bố, mẹ thai nhi.

STT	Kiểu gen bệnh của bố mẹ		Số cặp	Tỷ lệ (%)
1	$\alpha\alpha/\alpha\alpha - \beta/\beta^0$	$\alpha\alpha/\alpha\alpha - \beta/\beta^0$	50	34,2
2	$\alpha\alpha/\alpha\alpha - \beta/\beta^0$	$\alpha\alpha/\alpha\alpha - \beta/\beta^E$	38	26,0
3	$\alpha\alpha/\alpha\alpha - \beta/\beta^0$	$\alpha\alpha/\alpha\alpha - \beta/\beta^+$	6	4,1
4	$--/\alpha\alpha - \beta/\beta^0$	$\alpha\alpha/\alpha\alpha - \beta/\beta^E$	2	1,4
5	$--/\alpha\alpha - \beta/\beta^E$	$\alpha\alpha/\alpha\alpha - \beta/\beta^0$	1	0,7
6	$\alpha\alpha/\alpha\alpha - \beta/\beta^E$	$\alpha\alpha/\alpha\alpha - \beta/\beta^+$	1	0,7
7	$\alpha\alpha/\alpha\alpha - \beta^0/\beta^E$	$\alpha\alpha/\alpha\alpha - \beta/\beta^0$	1	0,7
8	$\alpha\alpha/\alpha\alpha - \beta^0/\beta^E$	$\alpha\alpha/\alpha\alpha - \beta/\beta^+$	1	0,7
9	$--/\alpha\alpha - \beta/\beta$	$--/\alpha\alpha - \beta/\beta$	17	11,6
10	$--/-\alpha - \beta/\beta$	$--/\alpha\alpha - \beta/\beta^+$	2	1,4
11	$--/\alpha^T\alpha - \beta/\beta$	$--/\alpha\alpha - \beta/\beta$	2	1,4
12	$--/-\alpha - \beta/\beta$	$--/\alpha\alpha - \beta/\beta$	1	0,7
13	$--/\alpha\alpha - \beta/\beta$	$\alpha^T\alpha/\alpha\alpha - \beta/\beta$	11	7,5
14	$--/\alpha\alpha - \beta/\beta$	$-\alpha/\alpha\alpha - \beta/\beta$	8	5,5
15	$--/\alpha\alpha - \beta/\beta$	$-\alpha/\alpha^T\alpha - \beta/\beta$	1	0,7
16	$--/-\alpha - \beta/\beta$	$\alpha^T\alpha/\alpha\alpha - \beta/\beta$	1	0,7
17	$--/\alpha^T\alpha - \beta/\beta$	$-\alpha/\alpha^T\alpha - \beta/\beta$	1	0,7
18	$--/\alpha\alpha - \beta/\beta^E$	$-\alpha/\alpha\alpha - \beta/\beta$	1	0,7
19	$--/-\alpha - \beta/\beta$	$-\alpha/\alpha\alpha - \beta/\beta$	1	0,7
Tổng số			146	100

Nhận xét: Trong 292 người (146 cặp) là bố, mẹ của 146 thai nhi được làm chẩn đoán trước sinh có 19 kiểu phối hợp kiểu gen của bố và mẹ. Kiểu phối hợp $\alpha\alpha/\alpha\alpha - \beta/\beta^0$ với $\alpha\alpha/\alpha\alpha - \beta/\beta^0$ chiếm tỷ lệ cao nhất (34,2%), tiếp đến là kiểu phối hợp $\alpha\alpha/\alpha\alpha - \beta/\beta^0$ với $\alpha\alpha/\alpha\alpha - \beta/\beta^E$ (26%). Kiểu phối hợp có nguy cơ sinh con bị Hb Bart's gồm $--/\alpha\alpha - \beta/\beta$ với $--/\alpha\alpha - \beta/\beta$; $--/-\alpha - \beta/\beta$ với $--/\alpha\alpha - \beta/\beta^+$; $--/\alpha^T\alpha - \beta/\beta$ với $--/\alpha\alpha - \beta/\beta$; $--/-\alpha - \beta/\beta$ với $--/\alpha\alpha - \beta/\beta$ ở 22 cặp vợ, chồng (15,1%).

3.1.2. Kết quả chẩn đoán đột biến gen globin bằng Strip Assay

3.1.2.1. Kết quả chẩn đoán trước sinh (xét nghiệm tế bào dịch ối)

Bảng 3.6. Kết quả chẩn đoán trước sinh tế bào dịch ối thai nhi

Nguy cơ bị bệnh của thai nhi	Không đột biến	Có đột biến (n, %)			Tổng cộng (n, %)
		1 đột biến	2 đột biến		
			Hb H	HbBart's	
<i>α-thalassemia</i>					
Phù thai (HbBart's)	3 (13,6)	8 (36,4)	3 (13,6)	8 (36,4)	22 (100)
Hb H	3 (12,5)	13 (54,2)	8 (33,3)		24 (100)
<i>Cộng</i>	6 (13,0)	21 (46,7)	11 (23,9)	8 (17,4)	46 (100)
<i>β-thalassemia</i>					
β -thalassemia	17 (29,3)	24 (41,4)	17 (29,3)		58 (100)
β -thal/HbE	8 (19,0)	19 (45,2)	15 (35,7)		42 (100)
<i>Cộng</i>	25 (25)	43 (43)	32 (32)		100 (100)
<i>Tổng cộng</i>	31 (21,2)	64 (43,8)	51 (34,9)		146 (100)

Nhận xét:

- Trong số 46 thai nhi được chẩn đoán trước sinh bệnh α - thalassemia, nguy cơ thai nhi bị phù hoặc HbH là 22 và 24 trường hợp. Kết quả chẩn đoán

tế bào dịch ôi phát hiện 8 trường hợp bị Hb Bart's (17,4%), 11 trường hợp bị HbH (23,9%).

- Trong 100 thai nhi có nguy cơ bị bệnh β -thalassemia và bị β -thalassemia/HbE, kết quả chẩn đoán trước sinh có 32 thai nhi bị bệnh (32%), 43 trường hợp mang gen (43%).

Bảng 3.7. Các kiểu đột biến gen α -globin phát hiện được trên thai nhi

STT	Kiểu gen	n	Tỷ lệ (%)	Alen đột biến	n	Tỷ lệ (%)
1	-- ^{SEA} / -- ^{SEA}	8	17,4	-- ^{SEA}	45	76,3
2	-- ^{SEA} / $\alpha^{Cs}\alpha$	2	4,3			
3	-- ^{SEA} / $\alpha^{3.7}\alpha$	5	10,9	$\alpha^{Cs}\alpha$	6	10,2
4	-- ^{SEA} / $\alpha^{4.2}\alpha$	1	2,2			
5	$\alpha^{Cs}\alpha / \alpha^{Cs}\alpha$	1	2,2	$\alpha^{3.7}\alpha$	6	10,2
6	$\alpha^{Cs}\alpha / \alpha^{3.7}\alpha$	1	2,2			
7	-- ^{SEA} / $\alpha^{C.2 delT}\alpha^*$	1	2,2	$\alpha^{4.2}\alpha$	1	1,7
8	-- ^{SEA} / $\alpha\alpha$	20	43,5			
9	$\alpha^{Cs}\alpha / \alpha\alpha$	1	2,2	$\alpha^{C.2 delT}\alpha^*$	1	1,7
10	$\alpha\alpha / \alpha\alpha$	6	13,0			
	Tổng cộng	46	100%	Tổng cộng	59	100

(*) Đột biến C2 delT đã được phát hiện bằng kỹ thuật PCR đơn.

Nhận xét: Trong số 46 thai nhi được chẩn đoán trước sinh bệnh α -thalassemia, 8 trường hợp có đột biến --^{SEA} / --^{SEA} (Hb Bart's); 9 thai có 2 đột biến gây α -thalassemia (HbH). Một trường hợp đồng hợp tử HbCs ($\alpha^{Cs}\alpha / \alpha^{Cs}\alpha$) và 1 trường hợp dị hợp tử kép $\alpha^{Cs}\alpha / \alpha^{3.7}\alpha$; 21 trường hợp có 1 đột biến trong đó 20 trường hợp là đột biến dị hợp tử SEA; 6 trường hợp

không có đột biến. Trong tổng số 59 alen đột biến, đột biến SEA gặp ở 45 alen chiếm tỷ lệ cao nhất (76,3%), tiếp đến là đột biến HbCs có 6 alen (10,2%), đột biến 3.7 có ở 6 alen, chiếm 10,2%.

Bảng 3.8. Các kiểu đột biến gen β -globin phát hiện được trên thai nhi

STT	Kiểu đột biến	n	Tỷ lệ (%)	Alen đột biến	n	Tỷ lệ (%)
1	$\beta^{Cd17}/\beta^{Cd26}$	10	10	Cd17(A>T)	40	37,4
2	$\beta^{Cd17}/\beta^{Cd41/42}$	7	7			
3	$\beta^{Cd41/42}/\beta^{Cd41/42}$	5	5	Cd41/42 (-TTCT)	34	31,8
4	$\beta^{Cd41/42}/\beta^{Cd26}$	4	4			
5	β^{Cd17}/β^{-28}	2	2	Cd26 (G>A) (HbE)	24	22,4
6	$\beta^{Cd17}/\beta^{Cd17}$	1	1			
7	$\beta^{Cd17}/\beta^{Cd71/72}$	1	1	-28 (A>G)	4	3,7
8	$\beta^{Cd41/42}/\beta^{IVS 2 - 654}$	1	1			
9	$\beta^{Cd41/42}/\beta^{IVS1-1}$	1	1	Cd71/72 (+A)	3	2,8
10	β^{Cd17}/β	18	18			
11	β^{Cd26}/β	10	10	IVS1-1 (G>T)	1	0,9
12	$\beta^{Cd41/42}/\beta$	11	11			
13	β^{-28}/β	2	2	IVS2- 654 (C>T)	1	0,9
14	$\beta^{Cd71/72}/\beta$	2	2			
15	β/β	25	25			
Tổng cộng		100	100%	Tổng cộng	107	100

Nhận xét: Trong 100 thai nhi được chẩn đoán trước sinh bệnh β -thlassemia gặp:

- 32 trường hợp có 2 đột biến chiếm 32%, kiểu đột biến hay gặp nhất là $\beta^{Cd17}/\beta^{Cd26}$ (10%), $\beta^{Cd17}/\beta^{Cd41/42}$ (7%), $\beta^{Cd41/42}/\beta^{Cd41/42}$ (5%);

- 43 trường hợp có 1 đột biến chiếm 43%, kiểu đột biến phổ biến nhất là β^{Cd17}/β (18%), $\beta^{Cd41/42}/\beta$ (11%), β^{Cd26}/β (10%).
- 107 alen đột biến, có 7 kiểu đột biến là Cd17, Cd41/42, Cd26, -28, Cd71/72, IVS1-1 và IVS2- 654, trong đó đột biến Cd17 có tỷ lệ cao nhất (37,4%), tiếp đến là đột biến Cd41/42 và Cd26 (HbE) chiếm tỷ lệ 31,8% và 22,4%.

3.1.2.2. *Kết quả chẩn đoán đột biến gen α -globin ở người nghi ngờ mang gen bệnh và bệnh nhân α -thalassemia*

Bảng 3.9. Các đột biến α -globin phát hiện được ở người nghi ngờ mang gen bệnh α -thalassemia

STT	Kiểu gen	Số người (n)	Tỷ lệ (%)
1	-- ^{SEA} / $\alpha\alpha$	29	70,7
2	α^{Cs} / $\alpha\alpha$	4	9,8
3	$\alpha^{3.7}$ / $\alpha\alpha$	3	7,3
4	$\alpha^{4.2}$ / $\alpha\alpha$	1	2,4
5	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$	4	9,8
	Tổng cộng	41	100

Nhận xét: Trong số 41 người nghi ngờ mang gen bệnh α -thalassemia, có 37 người đã xác định được có 1 đột biến gen α -globin, chiếm tỷ lệ 90,2%.

Có 4 kiểu đột biến gồm: Đột biến SEA gặp ở 29 người (70,7%), đột biến HbCs gặp ở 4 người (9,8%), đột biến 3.7 gặp ở 3 người (7,3%) và đột biến 4.2 gặp ở 1 người chiếm 2,4%.

Có 4 trường hợp chưa phát hiện được đột biến gen α -globin bằng kit α -globin Strip Assay.

Bảng 3.10. Các đột biến phát hiện được ở bệnh nhân α -thalassemia

Kiểu gen	n (%)	Hb trung bình (g/l)	Alen đột biến	n	%
-- ^{SEA} / α^{Cs}	9 (56,3)	82,2 \pm 18,6	-- ^{SEA}	16	50,0
-- ^{SEA} / α^{Ps}	2 (12,5)		α^{Cs}	9	28,1
-- ^{SEA} / $\alpha^{3.7}$	4 (25)	97,4 \pm 14,7	3.7	4	12,5
-- ^{SEA} / $\alpha^{4.2}$	1 (6,3)		α^{Ps}	2	6,3
			4.2	1	3,1
Tổng cộng	16 (100%)			32	100

Nhận xét: Trong số 16 bệnh nhân α -thalassemia, có 4 kiểu đột biến gen gồm: --^{SEA}/ α^{Cs} ở 9 bệnh nhân (56,3%), --^{SEA}/ $\alpha^{3.7}$ ở 4 bệnh nhân (25%), 2 bệnh nhân --^{SEA}/ α^{Ps} và 1 bệnh nhân --^{SEA}/ $\alpha^{4.2}$. Hb trung bình của 11 bệnh nhân có đột biến điểm phối hợp với đột biến mất 2 gen (--^{SEA}/ α^T) là 82,2 g/l thấp hơn nhóm 5 bệnh nhân mất 3 gen α -globin (--^{SEA}/ α) là 97,4 g/l.

Có 32 alen đột biến với 5 kiểu đột biến là SEA, HbCs, 3.7, 4.2 và Pakse, trong đó đột biến SEA chiếm tỷ lệ cao nhất là 50%.

3.1.2.3. Kết quả chẩn đoán đột biến gen β -globin ở người nghi ngờ mang gen bệnh và bệnh nhân β -thalassemia

Bảng 3.11. Các đột biến β -globin phát hiện được ở người nghi ngờ mang gen bệnh β -thalassemia

STT	Kiểu gen	Số người (n)	Tỷ lệ (%)
1	$\beta^{Cd41/42}/\beta$	10	34,5
2	β^{Cd17}/β	9	31,0
3	β^{Cd26}/β	3	10,3
4	β^{IVS1-1}/β	2	6,9
5	$\beta^{IVS2-654}/\beta$	2	6,9
6	β/β	3	10,3
	Tổng cộng	29	100

Nhận xét: Trong số 29 người nghi ngờ mang gen bệnh β -thalassemia, có 26 trường hợp được phát hiện có 1 đột biến. Có 3 loại đột biến gặp nhiều nhất là Cd41/42 (34,5%), Cd17 (31%), Cd26 (10,3%). Có 3 trường hợp chưa phát hiện được đột biến bằng bộ kit β -globin Strip Assay.

Bảng 3.12. Các đột biến phát hiện được ở bệnh nhân β -thalassemia

STT	Kiểu gen	n	Tỷ lệ (%)	Alen đột biến	n	Tỷ lệ (%)
1	β^{Cd17}/β^{C26}	6	17,6	Cd26 (G > A) (HbE)	21	33,3
2	$\beta^{Cd17}/\beta^{Cd41/42}$	2	5,9			
3	$\beta^{Cd41/42}/\beta^{Cd26}$	3	8,8	Cd17 (A > T)	11	17,5
4	$\beta^{Cd71/72}/\beta^{Cd26}$	2	6,9			
5	$\beta^{IVS1-1}/\beta^{Cd26}$	3	8,8	Cd41/42 (-TTCT)	10	15,9
6	$\beta^{IVS2-654}/\beta^{Cd26}$	3	8,8			
7	$\beta^{Cd41/42}/\beta^{Cd41/42}$	1	2,9	IVS1-1 (G > T)	7	11,1
8	$\beta^{Cd17}/\beta^{Cd95}$	1	2,9			
9	β^{Cd17}/β^{-28}	1	2,9	-28 (A > G)	5	7,9
10	$\beta^{Cd17}/\beta^{IVS1-1}$	1	2,9			
11	$\beta^{IVS1-1}/\beta^{IVS1-1}$	1	2,9	IVS2-654 (C > T)	4	6,4
12	$\beta^{Cd71/72}/\beta^{IVS2-654}$	1	2,9			
13	$\beta^{Cd8/9}/\beta^{IVS1-1}$	1	2,9	Cd71/72 (+A)	3	4,8
14	β^{-28}/β^{Cd26}	1	2,9			
15	β^{-28}/β^{-28}	1	2,9	Cd95 (+A)	1	1,6
16	$\beta^{Cd26}/\beta^{Cd26}$	1	2,9			
17	β^{-28}/β	1	2,9	Cd8/9 (+G)	1	1,6
18	β^{Cd26}/β	1	2,9			
19	$\beta^{Cd41/42}/\beta$	3	8,8			
Tổng cộng		34	100	Tổng cộng	63	100

Nhận xét: Trong 34 bệnh nhân β -thalassemia và β -thalassemia/HbE, 29 bệnh nhân được phát hiện có 2 đột biến với 16 kiểu gen, phổ biến nhất là $\beta^{Cd17}/\beta^{Cd26}$ (17,6%), $\beta^{Cd41/42}/\beta^{Cd26}$ (8,8%), $\beta^{IVS1-1}/\beta^{Cd26}$ (8,8%), $\beta^{IVS2-654}/\beta^{Cd26}$ (8,8%). Có 5 bệnh nhân chỉ phát hiện được 1 đột biến.

Trong tổng số 63 alen bị đột biến có 9 kiểu đột biến gồm Cd26, Cd17, Cd41/42, IVS1- 1, IVS2- 654, Cd71/72, -28, Cd95 và Cd8/9. Tỷ lệ các đột biến phổ biến là Cd26 (33,3%), Cd17 (17,5%), Cd41/42 (15,9%), IVS1-1 (G > T) (11,1%), và đột biến -28 (A > G) (7,9%). Có 1 alen mang đột biến hiếm gặp là Cd8/9.

Bảng 3.13. Nồng độ Hb trung bình theo các kiểu gen β -globin

Kiểu gen	Số bệnh nhân	Hb trung bình (g/l) ($\bar{X} \pm SD$)
β^0/β^0	08	70,9 \pm 17,5
β^0/β^E	17	75,8 \pm 14,6
β^0/β^+	01	71
β^+/β^+	01	87
β^+/β^E	01	89
β^E/β^E	01	110
Tổng cộng	29 (*)	

(*) Trong số 34 bệnh nhân β -thalassemia, có 29 bệnh nhân đã được xác định có 2 đột biến gen β -globin.

Nhận xét: Bệnh nhân có kiểu gen β^0/β^0 có lượng huyết sắc tố thấp nhất, trung bình là 70,9 g/l. Bệnh nhân có kiểu gen β^E/β^E có Hb 110 g/l.

3.1.2.4. Tổng hợp khả năng phát hiện được đột biến gen globin của bộ kit Strip Assay trên các đối tượng

Bảng 3.14. Tỷ lệ các alen đột biến được phát hiện bằng bộ kit α -globin Strip Assay

Đột biến	Số lượng	Tỷ lệ %
-- ^{SEA}	90	70,9
$\alpha^{Cs}\alpha$	19	15
3.7	13	10,2
4.2	3	2,4
$\alpha^{Ps}\alpha$	2	1,6
Tổng cộng	127	100

Nhận xét: Trong 127 alen có đột biến gen α -globin được phát hiện bằng bộ kit α -Globin Strip Assay trên 3 nhóm đối tượng nghiên cứu, có 5 loại đột biến gồm đột biến SEA, HbCs, 3.7, 4.2 và Pakse.

Bảng 3.15. Tỷ lệ các alen đột biến được phát hiện bằng bộ kit β -globin Strip Assay

Đột biến	Số lượng	Tỷ lệ %
Cd17	60	30,6
Cd41/42	54	27,6
Cd26	48	24,5
IVS1-1	10	5,1
-28	9	4,6
IVS2-654	7	3,6
Cd71/72	6	3,1
Cd95	1	0,5
Cd8/9	1	0,5
Tổng cộng	196	100

Nhận xét: Trong số 196 alen có đột biến gen β -globin được phát hiện bằng bộ kit β -Globin Strip Assay trên 3 nhóm đối tượng nghiên cứu, có 9 loại đột

biến, trong đó có 3 loại đột biến nhiều nhất là Cd17, Cd41/42 và Cd26 (HbE) chiếm 82,7%, sáu đột biến còn lại chỉ chiếm 17,3%.

3.1.2.5. Giải trình tự gen β -globin ở người nghi ngờ mang gen và bệnh nhân β -thalassemia

Bảng 3.16. Kết quả các đột biến gen β -globin được xác định bằng β -globin Strip Assay và giải trình tự gen β -globin

STT	Các đột biến theo phương pháp xét nghiệm	
	β -globin Strip Assay	Giải trình tự gen β -globin
1	$\beta^{\text{Cd41/42}}/\beta$	$\beta^{\text{Cd41/42}}/\beta^{-88}$
2	β^{-28}/β	β^{-28}/β^{-90}
3	$\beta^{\text{Cd26}}/\beta$	$\beta^{\text{Cd26}}/\beta^{\text{Cd35}}$
4	$\beta^{\text{Cd41/42}}/\beta$	$\beta^{\text{Cd41/42}}/\beta$
5	$\beta^{\text{Cd41/42}}/\beta$	$\beta^{\text{Cd41/42}}/\beta$
6	β/β	β^{-88}/β
7	β/β	β^{-88}/β
8	β/β	β/β

Nhận xét: Trong 5 bệnh nhân β -thalassemia (số thứ tự từ 1 đến 5) đã được xác định có 1 đột biến bằng kỹ thuật β -globin Strip Assay, có 3 bệnh nhân (số thứ tự 1,2,3) đã được phát hiện có thêm đột biến là -88, -90 và Cd35 khi làm xét nghiệm bằng giải trình tự gen β -globin.

Trong 3 người nghi ngờ mang gen bệnh β -thalassemia (số thứ tự từ 6 đến 8) không xác định được đột biến bằng kỹ thuật β -globin Strip Assay, có 2 người (số thứ tự 6,7) đã xác định được có đột biến là -88 khi làm xét nghiệm bằng giải trình gen β -globin.

Bảng 3.17. Đặc điểm chỉ số hồng cầu và thành phần huyết sắc tố của một số người có đột biến hiếm gặp

Kiểu đột biến	Kiểu gen	Hb (g/l)	MCV	MCH	HbA	HbA ₂	HbF	HbE
$\beta^{Cd41/42}/\beta^{-88}$	β^0/β^+	74	78,5	23,3	8	4	88	
β^{-28}/β^{-90}	β^+/β^+	87	79,9	23,8	56	7	37	
$\beta^{Cd35}/\beta^{Cd26}$	β^0/β^E	74	75,5	22,8	62,7	2	10	25,3
β^{-88}/β	β^+/β	142	74,1	24,2	94,4	5,6		
β^{-90}/β	β^+/β	133	73,3	22,8	94,2	5,8		

Nhận xét: Đột biến -88 và -90 thuộc nhóm β^+ , khi phối hợp với đột biến β^0 ($\beta^{Cd41/42}/\beta^{-88}$), người bệnh có Hb trung bình 74 g/l. Người mang gen đột biến β^+ (β^{-88}/β , β^{-90}/β) không thiếu máu (Hb là 142 và 133 g/l), tuy nhiên có MCV nhỏ (74,1 và 73,3 fl) và MCH thấp (24,2 và 22,8 pg) và thành phần HbA₂ tăng (5,6% và 5,8%).

3.2. Kết quả đánh giá quá tải sắt bằng MRI

3.2.1. Đặc điểm chung đối tượng nghiên cứu

3.2.1.1. Đặc điểm phân bố nhóm bệnh và thể bệnh của đối tượng nghiên cứu

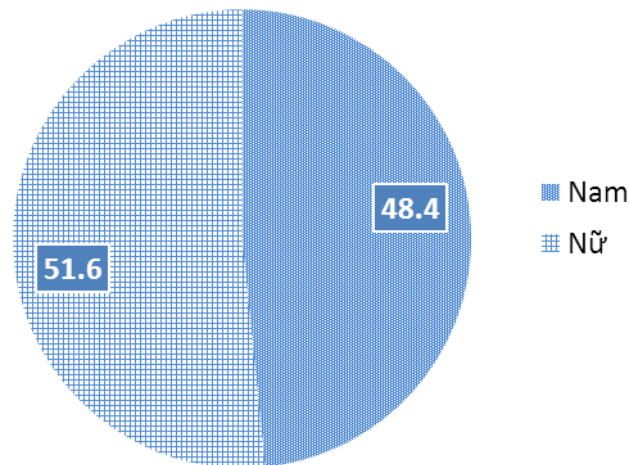
Bảng 3.18. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu (n = 434)

Nhóm bệnh	Thể bệnh (n, %)			Chung	Tuổi (X ± SD)	Hb (g/L) (X ± SD)
	α -thal	β -thal	β -thal/HbE			
Phụ thuộc truyền máu (TDT) (1)	0	53 (63,9)	30 (36,1)	83 (19,1)	13,8 ± 6,0 (7 - 34)	64,3 ± 15,8
Không phụ thuộc truyền máu (NTDT) (2)	69 (19,7)	28 (8,0)	254 (72,3)	351 (80,8)	28,2 ± 11,7 (6 - 63)	74,5 ± 13,7
Tổng cộng	69 (15,9)	81 (18,9)	284 (65,4)	434 (100)	24,4 ± 12,2 p(1)(2)<0,001	72,5 ± 14,7 p(1)(2)<0,001

Nhận xét: Trong 434 bệnh nhân, nhóm phụ thuộc truyền máu có 83 bệnh nhân chiếm 19,1%, nhóm không phụ thuộc truyền máu có 351 bệnh nhân chiếm 80,8%. Có 3 thể bệnh gồm: 69 bệnh nhân α -thalassemia chiếm 15,9%, 81 bệnh nhân β -thalassemia chiếm 18,9% và 284 bệnh nhân β -thalassemia/HbE chiếm 65,4%.

Độ tuổi trung bình của nhóm phụ thuộc truyền máu là $13,8 \pm 6,0$ tuổi, thấp hơn so với nhóm không phụ thuộc truyền máu là $28,2 \pm 11,7$ tuổi, sự khác biệt về độ tuổi có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

3.2.1.2. Đặc điểm phân bố giới tính của đối tượng nghiên cứu



Biểu đồ 3.1. Tỷ lệ giới tính của nhóm nghiên cứu

Nhận xét: Trong nhóm bệnh nhân nghiên cứu, tỷ lệ bệnh nhân nam là 48,4%, tỷ lệ bệnh nhân nữ là 51,6%, sự khác biệt về giới tính không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.2.2. Kết quả đánh giá mức độ quá tải sắt ở bệnh nhân thalassemia

3.2.2.1. Đánh giá mức độ quá tải sắt bằng ferritin huyết thanh

Bảng 3.19. Tỷ lệ các mức độ ferritin huyết thanh ở hai nhóm bệnh nhân phụ thuộc truyền máu và không phụ thuộc truyền máu (TDT và NTDT)

Ferritin huyết thanh (ng/ml)	Phụ thuộc truyền máu (TDT)		Không phụ thuộc truyền máu (NTDT)		Tổng cộng
	n	Tỷ lệ (%)	n	Tỷ lệ (%)	
Không quá tải sắt (≤ 600)	0	0	3	0,9	3 (0,7)
Quá tải sắt nhẹ ($601 - \leq 1000$)	0	0	12	3,4	12 (2,8)
Quá tải sắt trung bình ($1001 - \leq 2500$)	15	18,1	161	45,9	176 (40,5)
Quá tải sắt nặng (> 2500)	68	81,9	175	49,9	243 (56)
Tổng cộng	83	100	351	100	434 (100)
Nồng độ trung bình ($X \pm SD$)	4.229,8 \pm 1.839,6		2.909,9 \pm 1.678,7		p < 0,01

Nhận xét: Trong 434 bệnh nhân thalassemia được nghiên cứu, tỷ lệ bệnh nhân có ferritin huyết thanh mức quá tải sắt nặng, trung bình, nhẹ và bình thường lần lượt là 56%, 40,5%, 2,8% và 0,7%.

Trong 83 bệnh nhân nhóm TDT có 68 bệnh nhân có ferritin huyết thanh mức quá tải sắt nặng, chiếm 81,9%, không có bệnh nhân nào ferritin huyết thanh < 1000 ng/ml. Trong 351 bệnh nhân nhóm NTDT, tỷ lệ bệnh nhân có ferritin huyết thanh mức quá tải sắt nặng, trung bình, nhẹ và bình thường lần lượt là 49,9%, 45,9%, 3,4% và 0,9%. Sự khác nhau về tỷ lệ các mức độ quá tải sắt định lượng bằng ferritin huyết thanh giữa hai nhóm bệnh TDT và NTDT có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (test χ^2).

Nồng độ ferritin trung bình ở nhóm TDT là 4.229,8 ng/ml, cao hơn ở nhóm NTDT là 2.909,9 ng/ml, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$ (test t- student).

3.2.2.2. Đánh giá mức độ quá tải sắt tại gan

**Bảng 3.20. Tỷ lệ các mức độ quá tải sắt tại gan (LIC)
ở hai nhóm bệnh nhân TDT và NTDT (n = 434)**

LIC (mg/g gan khô)	Phụ thuộc truyền máu (TDT)		Không phụ thuộc truyền máu (NTDT)		Tổng cộng
	n	Tỷ lệ (%)	n	Tỷ lệ (%)	
Bình thường (≤ 2)	0	0	5	1,4	5 (1,2)
Quá tải sắt nhẹ ($2 - \leq 7$)	3	3,6	28	8,0	31 (7,1)
Quá tải sắt trung bình ($7 - \leq 15$)	7	8,4	73	20,8	80 (18,4)
Quá tải sắt nặng (> 15)	73	88,0	245	69,8	318 (73,3)
Tổng cộng	83	100	351	(100)	434 (100)
Nồng độ trung bình ($X \pm SD$)	20,97 \pm 6,0		18,0 \pm 7,0		p < 0,01

Nhận xét: Trong 434 bệnh nhân thalassemia được nghiên cứu, tỷ lệ bệnh nhân có quá tải sắt trong gan mức độ nặng, trung bình, nhẹ và bình thường lần lượt là 73,3%; 18,4%; 7,1% và 1,2%.

Tỷ lệ bệnh nhân có quá tải sắt trong gan mức độ nặng, trung bình, nhẹ và bình thường lần lượt ở nhóm TDT là 88,0%; 8,4%; 3,6% và 0% và ở nhóm NTDT là 69,8%; 20,8%; 8,0% và 1,4%. Sự khác nhau về tỷ lệ các mức độ quá tải sắt tại gan giữa hai nhóm bệnh TDT và NTDT có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p < 0,05.

Nồng độ LIC trung bình ở nhóm TDT là 20,97 mg/g gan khô, cao hơn ở nhóm NTDT là 18,0 mg/g gan khô, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p < 0,01.

3.2.2.3. Đánh giá mức độ quá tải sắt tại tim

Bảng 3.21. Tỷ lệ các mức độ quá tải sắt tại tim ($T2^*$ tim) ở hai nhóm bệnh nhân TDT và NTDT ($n = 434$)

$T2^*$ tim (ms)	Phụ thuộc truyền máu (TDT)		Không phụ thuộc truyền máu (NTDT)		Tổng cộng
	n	%	n	%	
Bình thường (> 20)	48	57,8	321	91,5	369 (85,0)
Quá tải sắt nhẹ ($15 \leq 20$)	10	12,0	13	3,7	23 (5,3)
Quá tải sắt trung bình ($10 \leq 15$)	7	8,4	12	3,4	19 (4,4)
Quá tải sắt nặng (<10)	18	21,7	5	1,4	23 (5,3)
Tổng cộng	83	100	351	100	434 (100)
Giá trị trung bình ($X \pm SD$)	24,0 \pm 14,6		36,4 \pm 13,3		p < 0,01

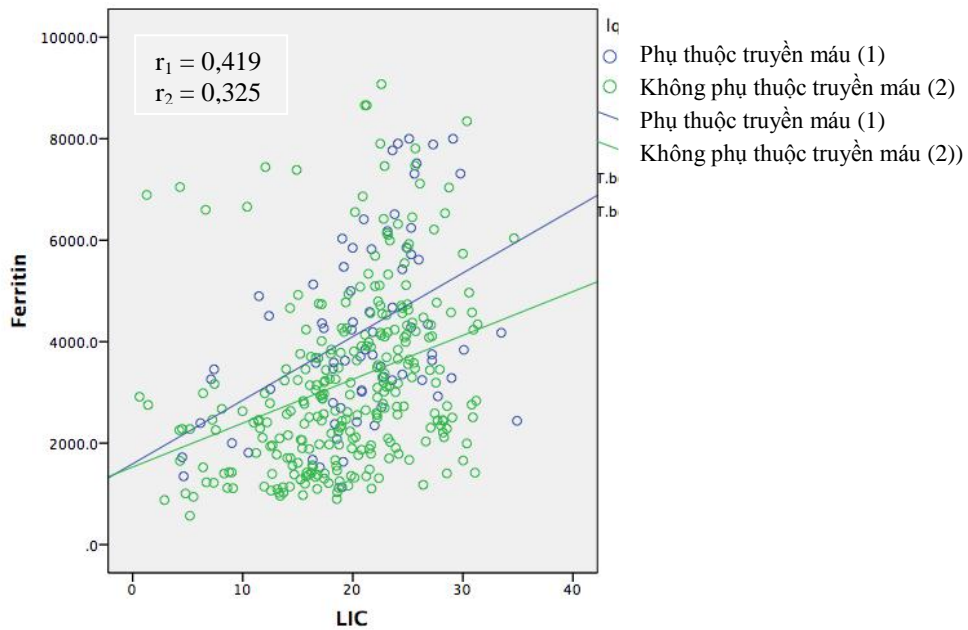
Nhận xét: Trong 434 bệnh nhân thalassemia được nghiên cứu, tỷ lệ bệnh nhân có quá tải sắt trong tim mức độ nặng, trung bình, nhẹ và bình thường lần lượt là 5,3%, 4,4 %, 5,3% và 85%.

Tỷ lệ bệnh nhân có quá tải sắt trong tim mức độ nặng, trung bình, nhẹ và bình thường ở nhóm TDT lần lượt là 21,7%; 8,4%; 12,0% và 57,8% và ở nhóm NTDT là 1,4%; 3,4 %; 3,7% và 91,5%. Sự khác nhau về tỷ lệ các mức độ quá tải sắt tại tim giữa hai nhóm bệnh TDT và NTDT có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Chỉ số $T2^*$ tim trung bình ở nhóm TDT là 24,0 ms, thấp hơn nhóm NTDT là 36,4 ms, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

3.2.2.4. Tìm hiểu mối tương quan giữa các chỉ số ferritin huyết thanh, LIC và $T2^*$ tim

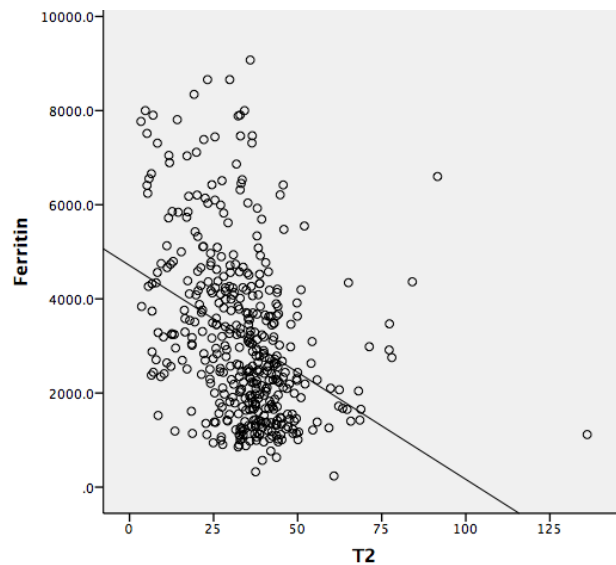
a) Mối tương quan giữa ferritin và LIC



Biểu đồ 3.2. Mối tương quan giữa ferritin và LIC ở hai nhóm bệnh nhân TDT và NTDT (n = 434)

Nhận xét: Giữa chỉ số ferritin huyết thanh và nồng độ sắt trong gan (LIC) ở cả hai nhóm nhóm phụ thuộc truyền máu (TDT) và không phụ thuộc truyền máu (NTDT) có mối tương quan thuận mức độ trung bình (r tương ứng là $r_1 = 0,419$, $r_2 = 0,325$), có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

b) Mối tương quan giữa ferritin và T2 tim*



Biểu đồ 3.3. Mối tương quan giữa ferritin và T2* tim ở bệnh nhân thalassemia (n = 434)

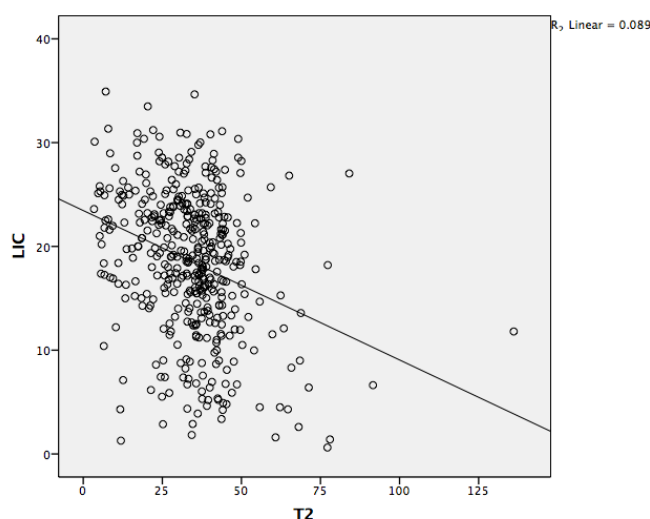
Nhận xét: Giữa chỉ số ferritin huyết thanh và T2* tim có mối tương quan nghịch ở mức độ trung bình với $r = -0,360$, mối tương quan có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Bảng 3.22. Mối liên quan giữa quá tải sắt tại tim và ferritin huyết thanh ở bệnh nhân thalassemia ($n = 434$)

Quá tải sắt tại tim Ferritin (ng/ml)	Không (T2* tim > 20 ms) (n, %)	Có (T2* tim ≤ 20 ms) (n, %)	Tổng cộng (n, %)
≤ 2500	183 (95,8)	8 (4,2)	191 (100)
> 2500	186 (76,5)	57 (23,5)	243 (100)
Tổng cộng	369 (85,0)	65 (15,0)	434 (100)
$p < 0,001$; OR = 0,143; CI 95% [0,066; 0,307]			

Nhận xét: Có mối liên quan giữa tình trạng quá tải sắt tại tim (T2* tim ≤ 20 ms) với nồng độ ferritin huyết thanh. Với nồng độ ferritin huyết thanh > 2.500 ng/ml thì có 23,5% bệnh nhân bị quá tải sắt tại tim (T2* tim ≤ 20 ms), khi ferritin ≤ 2.500 ng/ml thì chỉ có 4,2% bệnh nhân bị quá tải sắt tại tim, sự khác biệt về tỷ lệ bệnh nhân có quá tải sắt ở tim trong hai nhóm nghiên cứu là có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$, OR = 0,143, CI 95% [0,066; 0,307].

c) *Mối tương quan giữa LIC và T2* tim*



Biểu đồ 3.4. Mối tương quan giữa LIC và T2* tim ở bệnh nhân thalassemia ($n = 434$)

Nhận xét: Giữa LIC và T2* tim có mối tương quan nghịch ở mức độ trung bình với $r = -0,313$, mối tương quan nghịch này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Bảng 3.23. Mối liên quan giữa quá tải sắt tại tim và nồng độ sắt trong gan (LIC) ở bệnh nhân thalassemia ($n = 434$)

Quá tải sắt tại tim LIC (mg/g gan khô)	Không (T2* tim > 20 ms) (n, %)	Có (T2* tim ≤ 20 ms) (n, %)	Tổng cộng (n, %)
≤ 15	110 (94,8)	6 (5,2)	116 (100)
> 15	259 (81,4)	59 (18,6)	318 (100)
Tổng cộng	369 (85,0)	65 (15,0)	434 (100)
$p < 0,001$; OR = 0,234; CI95% [0,102; 0,578]			

Nhận xét: Có mối liên quan giữa tình trạng quá tải sắt tại tim (T2* tim ≤ 20 ms) và nồng độ sắt trong gan (LIC). Với LIC > 15 mg/g gan khô thì có 18,5% bệnh nhân bị quá tải sắt ở tim (T2* tim ≤ 20 ms), khi LIC ≤ 15 mg/g gan khô thì chỉ có 5,2% bệnh nhân bị quá tải sắt tại tim, sự khác biệt về tỷ lệ bệnh nhân bị quá tải sắt tại tim giữa hai nhóm nghiên cứu là có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$, OR = 0,234; CI95% [0,102; 0,578].

3.2.3. Mối liên quan giữa quá tải sắt với tổn thương các cơ quan

3.2.3.1. Tổn thương gan

a) Mối liên quan giữa LIC và chỉ số đánh giá xơ gan

Bảng 3.24. Mối liên quan giữa LIC và chỉ số xơ gan (APRI*) ở bệnh nhân thalassemia ($n = 181^{}$)**

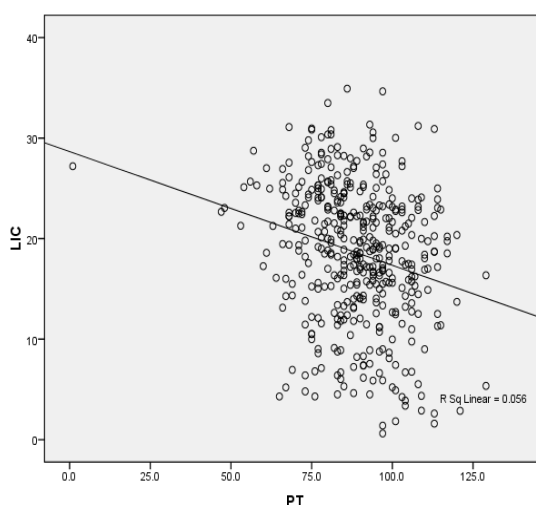
Xếp nhóm xơ gan (theo chỉ số APRI)	n	Tỷ lệ (%)	LIC mg/g (X ± SD)
Bình thường (1) APRI ≤ 0,7	118	65,2	15,0 ± 7,4
Xơ hóa (2) APRI: 0,7 – 1,0	34	18,8	16,6 ± 6,2
Xơ gan (3) APRI > 1,0	29	16	18,9 ± 6,2
Tổng cộng	181	100	$p(1,2), p(2,3), p(1,3) < 0,05$

(*) APRI: Chỉ số đánh giá xơ gan dựa vào men gan GOT và số lượng tiểu cầu (trang 51).

(**) Có 181 bệnh nhân chưa cắt lách được đánh giá tình trạng xơ gan dựa vào chỉ số APRI.

Nhận xét: Nồng độ sắt trong gan (LIC) trung bình ở các nhóm bệnh nhân bị xơ gan (APRI > 1), xơ hóa gan (APRI: 0,7 - 1,0) và bình thường lần lượt là 18,9, 16,6 và 15,0 mg/g gan khô. Sự khác biệt giữa các nhóm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

b) *Tương quan giữa LIC và prothrombin*



Biểu đồ 3.5. Mối tương quan giữa LIC và prothrombin (n = 434)

Nhận xét: Giữa nồng độ sắt trong gan (LIC) và prothrombin (%) có mối tương quan nghịch mức độ thấp với $r = -0,237$, mối tương quan có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

3.2.3.2. *Biến chứng tim*

Bảng 3.25. Mối liên quan giữa quá tải sắt tại tim với sức bóp cơ tim ở bệnh nhân thalassemia (n = 434)

Quá tải sắt tại tim Sức bóp cơ tim	Có (n, %) T2* tim ≤ 20 ms	Không (n, %) T2* tim > 20 ms	Tổng cộng (n, %)
Giảm	8 (12,3)	12 (3,3)	20 (4,6)
Bình thường	57 (87,7)	357 (96,7)	414 (95,4)
Tổng cộng	65 (100)	369 (100)	434 (100)
$p < 0,01$; OR = 4,174, CI 95% [1,636; 10,660]			

Nhận xét: Trong nhóm bệnh nhân có quá tải sắt tại tim ($T2^*$ tim ≤ 20 ms), có 12,3% bệnh nhân bị giảm sức bóp cơ tim, nhóm bệnh nhân không có quá tải sắt tại tim ($T2^*$ tim > 20 ms), có 3,3% bệnh nhân bị giảm sức bóp cơ tim. Sự khác biệt về các tỷ lệ bệnh nhân giảm sức bóp cơ tim ở hai nhóm có quá tải sắt tại tim và không quá tải sắt tại tim có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$, OR = 4,174, CI 95% [1,636; 10,660].

Bảng 3.26. Mối liên quan giữa quá tải sắt tại tim với rối loạn nhịp tim ở bệnh nhân thalassemia (n = 434)

Quá tải sắt tại tim Rối loạn nhịp tim	Có (n, %) ($T2^*$ tim ≤ 20 ms)	Không (n, %) ($T2^*$ tim > 20ms)	Tổng cộng (n, %)
Có	1 (1,5)	13 (3,5)	14 (3,2)
Không	64 (98,5)	356 (96,5)	420 (96,8)
Tổng cộng	65 (100)	369 (100)	434 (100)
$p = 0,34$			

Nhận xét: Có 14 bệnh nhân bị rối loạn nhịp tim. Nhóm bệnh nhân có quá tải sắt ở tim chỉ có 1 bệnh nhân bị rối loạn nhịp tim (1,5%). Nhóm không có quá tải sắt tại tim có 13 bệnh nhân bị rối loạn nhịp tim (3,5%). Sự khác biệt về tỷ lệ bệnh nhân bị rối loạn nhịp tim ở hai nhóm có và không quá tải sắt tại tim không có ý nghĩa thống kê, $p > 0,05$.

Bảng 3.27. Mối liên quan giữa LIC và giảm sức bóp cơ tim (n = 434)

Sức bóp cơ tim LIC (mg/g)	Giảm (n, %)	Bình thường (n, %)	Tổng số
> 15	15 (4,7)	303 (95,4)	318 (100)
≤ 15	5 (4,3)	111 (95,7)	116 (100)
Tổng	20 (4,6)	414 (95,4)	434
$p = 0,546$			

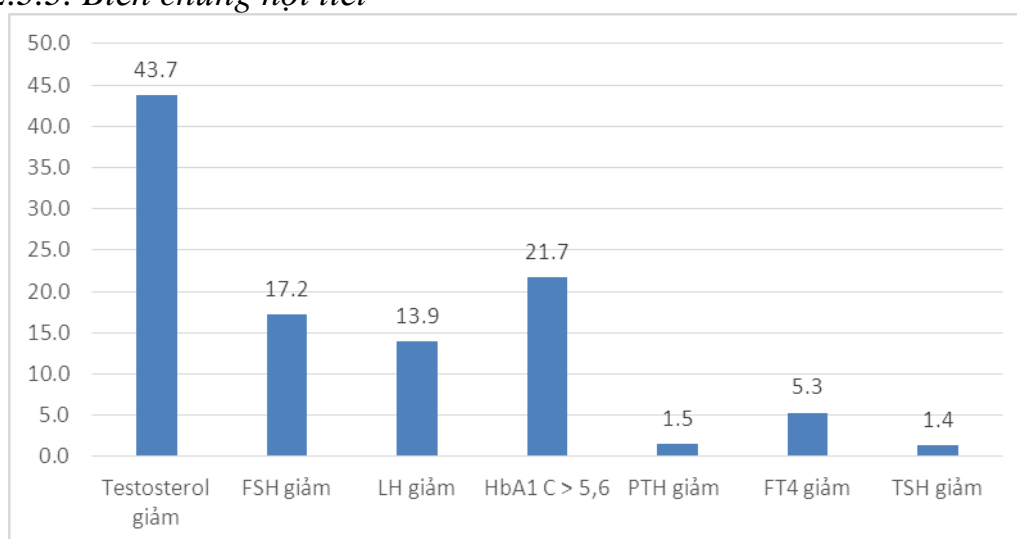
Nhận xét : Không có mối liên quan giữa tỷ lệ bệnh nhân bị giảm sức bóp cơ tim với nồng độ sắt trong gan mức độ nặng ($LIC > 15$ mg/g gan khô) và nồng độ sắt trong gan không nặng ($LIC \leq 15$ mg/g gan khô) với $p > 0,5$. Không có mối liên quan giữa tỷ lệ bệnh nhân bị giảm sức bóp cơ tim với nồng độ ferritin huyết thanh mức độ nặng và không nặng với $p > 0,5$.

Bảng 3.28. Mối liên quan giữa ferritin huyết thanh với giảm sức bóp cơ tim (n = 434)

Sức bóp cơ tim Ferritin ht (ng/ml)	Giảm (n, %)	Bình thường (n, %)	Tổng số
> 2500	13 (5,3)	230 (94,7)	243 (100)
\leq 2500	7 (3,7)	184 (96,3)	191 (100)
Tổng	20 (4,6)	414 (95,4)	434
$p = 0,277$			

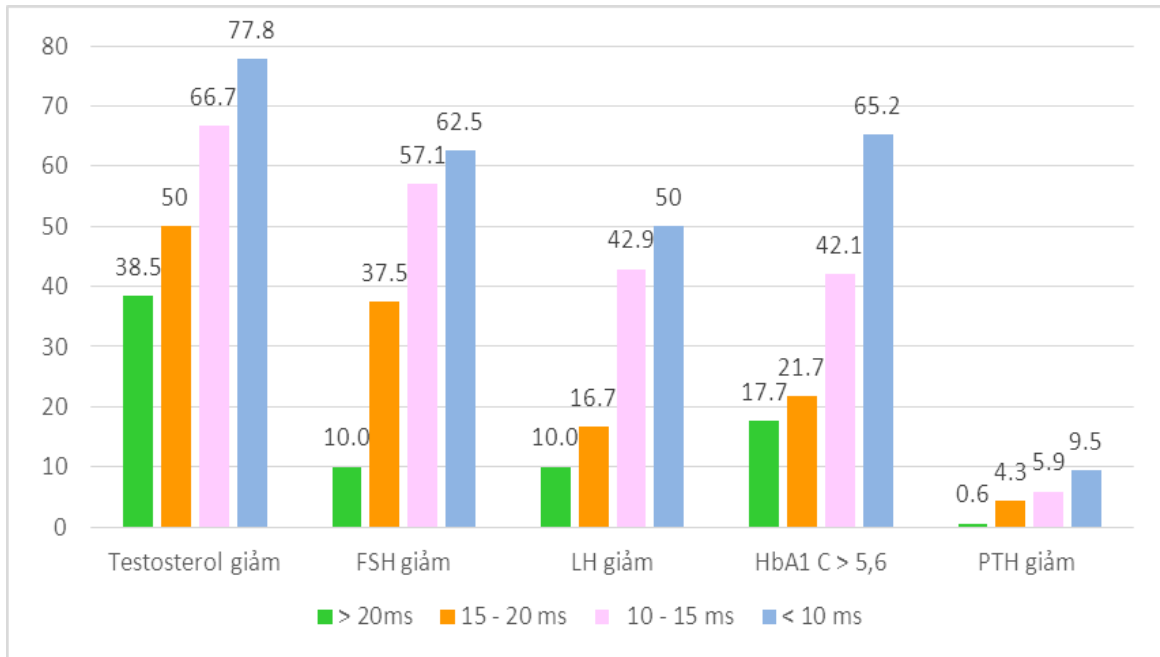
Nhận xét: Trong 243 bệnh nhân có ferritin huyết thanh > 2500 ng/ml, có 13 bệnh nhân (5,3%) bị giảm sức bóp cơ tim. Trong 191 bệnh nhân có ferritin huyết thanh ≤ 2500 ng/ml, có 7 bệnh nhân (3,7%) bị giảm sức bóp cơ tim. Không có sự khác biệt về tỷ lệ bệnh nhân bị giảm sức bóp cơ tim giữa nhóm quá tải sắt tính theo ferritin huyết thanh với $p > 0,5$.

3.2.3.3. Biến chứng nội tiết



Biểu đồ 3.6. Tỷ lệ bệnh nhân bị giảm các loại hormon

Nhận xét: Có 21,7% bệnh nhân có kết quả xét nghiệm HbA1C trên 5,6%, có 1,5% bệnh nhân bị giảm PTH, 5,3% giảm FT4 và 1,4% giảm TSH. Trong số bệnh nhân nam trên 15 tuổi, có 43,7% bị giảm testosterone, 17,2% bị giảm FSH, 13,9% giảm LH.



Biểu đồ 3.7. Tỷ lệ bệnh nhân bị giảm các loại hormone theo các mức độ quá tải sắt tại tim (T2**tim*)

Nhận xét: Tỷ lệ bệnh nhân bị giảm hormone có liên quan đến mức độ quá tải sắt tại tim. Tỷ lệ bệnh nhân giảm testosterone ở nhóm bệnh nhân tim không bị quá tải sắt (T2* > 20 ms) là 38,5%, quá tải sắt nhẹ (T2* tim 15 - 20 ms) là 50%, quá tải sắt vừa (T2* tim 10 -15 ms) là 66,7% và quá tải sắt nặng (T2* tim < 10 ms) là 77,8%. Sự khác nhau về tỷ lệ giảm hormone ở các mức độ quá tải sắt ở tim là có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Bảng 3.29. Mối liên quan giữa T2* tim, LIC, ferritin với tỷ lệ giảm hormon sinh dục ở bệnh nhân nam trên 15 tuổi (n = 151)(*)

Hormon		T2* tim (ms)		LIC (mg/g)		Ferritin (ng/ml)		Chung N = 151
		≤ 20 (n=21)	> 20 (n=130)	> 15 (n=119)	≤ 15 (n=32)	> 2.500 (n=91)	≤ 2.500 (n=60)	
LH	Giảm	8 (38,1%)	13 (10,0%)	20 (16,8%)	1 (3,1%)	18 (19,8%)	3 (5,0%)	21 (13,9%)
	Bình thường	13 (61,9%)	117 (90,0%)	99 (83,2%)	31 (96,9%)	73 (80,2%)	57 (95,0%)	130 (86,1%)
		p < 0,001		p < 0,01		p < 0,01		
FSH	Giảm	12 (57,1%)	13 (10,0%)	25 (21,0%)	1 (3,1%)	25 (27,5%)	1 (1,7%)	26 (17,2%)
	Bình thường	9 (42,9%)	117 (90%)	94 (79,0%)	31 (96,9%)	66 (72,5%)	59 (98,3%)	125 (82,8%)
		p < 0,001		p = 0,018		p < 0,001		
Testosterone	Giảm	16 (76,2%)	50 (38,5%)	56 (47,1%)	10 (31,2%)	45 (49,5%)	21 (35,0%)	66 (43,7%)
	Bình thường	5 (23,8%)	80 (61,5%)	63 (52,9%)	22 (68,8%)	46 (50,5%)	39 (65,0%)	85 (56,3%)
		p < 0,01		p = 0,109		p = 0,080		

(*) Có 151 bệnh nhân nam trên 15 tuổi được đánh giá về hormon tuyến sinh dục.

Nhận xét: Tỷ lệ giảm hormon sinh dục LH, FSH ở nhóm T2* tim ≤ 20 ms cao hơn so với nhóm bệnh nhân có T2* tim > 20 ms, có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p < 0,05.

Tỷ lệ bệnh nhân có giảm testosterone ở nhóm LIC > 15 mg/g gan khô cao hơn so với nhóm bệnh nhân có LIC < 15 mg/g gan khô và tỷ lệ bệnh nhân có giảm testosterone ở nhóm ferritin > 2500 ng/ml cao hơn so với nhóm ferritin < 2.500 ng/ml, tuy nhiên không thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p > 0,05.

Bảng 3.30. Mối liên quan giữa T2* tim, LIC, ferritin với tỷ lệ bệnh nhân giảm hormon tuyến cận giáp (n = 404*)

Hormon		T2* tim (ms)		LIC (mg/g)		Ferritin (ng/ml)		Chung N = 404
		≤ 20 (n=59)	> 20 (n=345)	> 15 (n=297)	≤ 15 (n=115)	> 2.500 (n=221)	≤ 2.500 (n=183)	
PTH	Giảm	4 (6,8%)	2 (0,6%)	5 (1,7%)	1 (0,9%)	4 (1,8%)	2 (1,1%)	6 (1,5%)
	Bình thường	55 (93,2%)	343 (99,4%)	292 (98,3%)	106 (99,1%)	217 (99,2%)	181 (98,9%)	398 (98,5%)
		p < 0,001		p = 0,583		p = 0,535		

(*) Có 404 bệnh nhân được làm xét nghiệm hormon PTH

Nhận xét: Chỉ có 1,5% bệnh nhân có PTH giảm. Tỷ lệ PTH giảm ở nhóm T2* tim < 20 ms là 6,8%, ở nhóm T2* tim > 20 ms là 0,6%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 nhóm với p < 0,001. Tỷ lệ bệnh nhân có giảm PTH ở nhóm LIC > 15 mg/g gan khô cao hơn so với nhóm LIC < 15 mg/g gan khô và ở nhóm ferritin > 2500 ng/ml cao hơn so với nhóm ferritin < 2.500 ng/ml, tuy nhiên chưa thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p > 0,05.

Bảng 3.31. Mối liên quan giữa T2* tim, LIC, ferritin với tỷ lệ bệnh nhân giảm hormon tuyến cận giáp (n = 434)

Hormon		T2* tim (ms)		LIC (mg/g)		Ferritin (ng/ml)		Chung N = 434
		≤ 20 (n=65)	> 20 (n=369)	> 15 (n=318)	≤ 15 (n=116)	> 2.500 (n=243)	≤ 2.500 (n=191)	
TSH	Giảm	0 (0%)	5 (1,4%)	3 (0,9%)	2 (1,7%)	3 (1,2%)	2 (1,0%)	5 (1,2%)
	Bình thường	65 (100%)	364 (98,6%)	315 (99,1%)	114 (98,3%)	240 (98,8%)	189 (99,0%)	429 (98,8%)
		p = 0,44		p = 0,403		p = 0,615		
FT4	Giảm	1 (1,5%)	22 (6%)	19 (6%)	4 (3,4%)	12 (4,9%)	11 (5,8%)	23 (5,3%)
	Bình thường	64 (98,5%)	347 (94%)	299 (94%)	112 (96,6%)	231 (95,1%)	180 (94,2%)	411 (94,7%)
		p = 0,113		p = 0,22		p = 0,42		

Nhận xét: Trong 434 bệnh nhân được làm xét nghiệm TSH và FT4, tỷ lệ bệnh nhân giảm TSH là 1,2%, tỷ lệ bệnh nhân giảm FT4 giảm là 5,3%. Không có sự khác biệt về tỷ lệ giảm hormon hướng giáp trạng và hormon tuyến giáp khi so sánh theo các mức độ quá tải sắt tại tim, tại gan và ferritin huyết thanh.

Bảng 3.32. Mối liên quan giữa T2* tim, LIC, ferritin với chỉ số HbA1C (n = 434)

Chỉ số		T2* tim (ms)		LIC (mg/g)		Ferritin (ng/ml)		Chung N = 434
		≤ 20 (n=65)	> 20 (n=369)	> 15 (n=318)	≤ 15 (n=116)	> 2.500 (n=243)	≤ 2.500 (n=191)	
HbA1C	< 5,6%	28 (43,1%)	66 (17,9%)	71 (22,3%)	23 (19,8%)	62 (25,5%)	32 (16,8%)	94 (21,7%)
	≤ 5,6%	37 (56,9%)	303 (82,1%)	247 (77,7%)	93 (80,2%)	181 (74,5%)	159 (83,2%)	340 (78,3%)
		p < 0,01		p = 0,576		p = 0,058		

Nhận xét: Tỷ lệ bệnh nhân có HbA1C > 5,6% là 21,7%, ở nhóm T2* tim < 20 ms là 43,1% cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm T2* tim > 20 ms là 17,9% với p < 0,01. Tỷ lệ HbA1C > 5,6% ở nhóm ferritin > 2.500 ng/ml là 25,5% cao hơn so với nhóm ferritin < 2.500 ng/ml là 16,8% nhưng không có ý nghĩa thống kê với p > 0,05. Sự khác biệt về tỷ lệ HbA1C > 5,6% giữa nhóm LIC > 15 mg/g gan khô là 22,3% và LIC < 15 mg/g gan khô là 19,8%, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với p > 0,5.

3.2.4. Sự thay đổi các chỉ số quá tải sắt ở bệnh nhân được điều trị thải sắt thường xuyên trong 1 năm

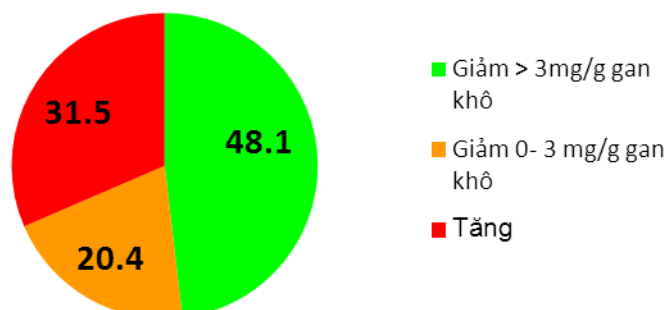
3.2.4.1. Kết quả chung

Bảng 3.33. Đặc điểm chung của nhóm điều trị thải sắt thường xuyên

Đặc điểm	Chỉ số
Tổng số	54
Nam : nữ	27 : 27
Độ tuổi	23,8 ± 9,8
Phân nhóm bệnh TDT : NTDT	13 : 41
Nồng độ sắt trong gan trung bình (LIC) (mg/g gan khô)	20,6 ± 5,2
Nồng độ sắt trong tim trung bình (T2* tim) (ms)	29,8 ± 13,0
Nồng độ ferritin huyết thanh trung bình (ng/ml)	3562,2 ± 1627,6
Thể tích KHC/kg/năm (ml/kg/năm)	167, ± 98,7
Liều thuốc Deferoxamin (DFO) (mg/kg/ngày)	15,2 ± 6,0
Liều thuốc Deferipron (DPF) (mg/kg/ngày)	38,6 ± 4,6
Liều thuốc Deferasirox (DFX) (mg/kg/ngày)	18,5 ± 3,6
Số lượng bệnh nhân điều trị thải sắt DFO : DPF : DFX	13 : 8 : 41

Bệnh nhân thải sắt thường xuyên là những bệnh nhân được sử dụng thuốc thải sắt hàng tháng.

3.2.4.2. Đặc điểm thay đổi các chỉ số đánh giá quá tải sắt ở nhóm bệnh nhân điều trị có hiệu quả và không hiệu quả



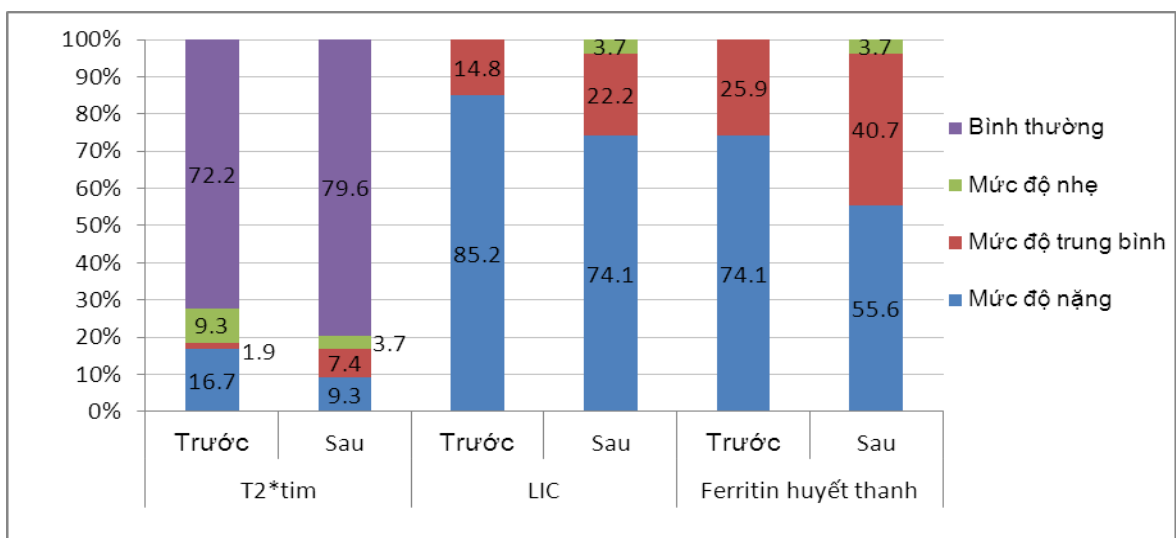
Biểu đồ 3.8. Tỷ lệ bệnh nhân thay đổi nồng độ sắt trong gan sau 1 năm điều trị thải sắt thường xuyên (n = 54)

Nhận xét: Sau 1 năm điều trị, trong số 54 bệnh nhân được nghiên cứu có 48,1% bệnh nhân có hiệu quả điều trị thải sắt tốt (LIC giảm > 3 mg/gan khô), 20,4% bệnh nhân LIC không thay đổi hoặc giảm nhẹ (LIC giảm < 3 mg/g gan khô), 31,5% bệnh nhân có LIC tăng thêm sau điều trị 1 năm.

Bảng 3.34. Giá trị trung bình các chỉ số đánh giá quá tải sắt trước và sau điều trị thải sắt 1 năm (n = 54)

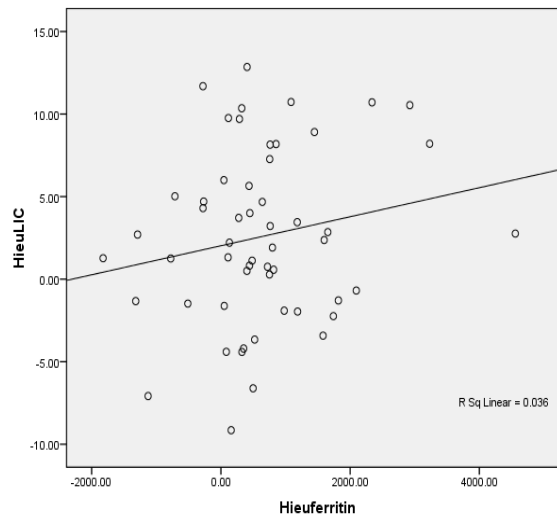
Chỉ số	Trước điều trị (1) (X ± SD)	Sau điều trị (2) (X ± SD)	Thay đổi	p (1),(2)
LIC (mg/g gan khô)	20,6 ± 5,2	18,2 ± 5,2	2,6 ± 5,2 (-9,2 đến 12,9)	< 0,01
T2*tim (ms)	29,8 ± 13,0	31,5 ± 15,7	-1,7 ± 11 (-41,2 đến 15,7)	< 0,01
Ferritin huyết thanh (ng/ml)	3562,2 ± 1627,6	2936 ± 1600,4	625,5 ± 1121,8 (-1823 đến 4556)	< 0,01

Nhận xét: Sau điều trị 1 năm, nồng độ sắt trong gan giảm trung bình 2,6 mg/g gan khô; ferritin huyết thanh giảm trung bình 625,5 ng/ml; T2* tim tăng trung bình 1,7 ms. Sự thay đổi các chỉ số đánh giá quá tải trước và sau điều trị có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p < 0,01.



Biểu đồ 3.9. Tỷ lệ các mức độ quá tải sắt trước và sau điều trị (n = 54)

Nhận xét: Tỷ lệ bệnh nhân bị quá tải sắt nặng ở tim giảm từ 16,7% xuống 9,3%; quá tải sắt nặng ở gan giảm từ 85,2% xuống 74,1%, Ferritin huyết thanh mức độ nặng giảm từ 74,4% xuống 55,6%. Tỷ lệ bệnh nhân không bị quá tải sắt ở tim tăng từ 72,2% lên 79,6%.



Biểu đồ 3.10. Mối tương quan giữa sự thay đổi LIC và ferritin huyết thanh

Nhận xét: Không có mối tương quan thuận giữa sự thay đổi chỉ số LIC và ferritin huyết thanh sau 1 năm điều trị thải sắt với $r = 0,19$, $p = 0,172$.

Bảng 3.35. Sự thay đổi LIC và ferritin sau 1 năm điều trị thải sắt thường xuyên (n = 54)

Ferritin ht \ LIC	LIC giảm (n,%)	LIC tăng (n,%)	Tổng cộng (n,%)
Ferritin giảm	31 (57,4)	13 (21,1)	44 (81,5)
Ferritin tăng	7 (13)	3 (5,6)	10 (18,5)
Tổng cộng	38 (70,4)	16 (29,6)	54 (100)

Nhận xét: 54 bệnh nhân được theo dõi điều trị thải sắt trong 1 năm. Có 38 bệnh nhân có giảm nồng độ sắt trong gan (LIC) chiếm 70,4%, 16 bệnh nhân có LIC tăng chiếm 29,6%. Có 44 bệnh nhân (81,5%) giảm ferritin huyết thanh, 10 bệnh nhân (18,5%) tăng ferritin huyết thanh. 57,4% bệnh nhân giảm đồng thời cả LIC và ferritin huyết thanh; có 5,6% bệnh nhân có tăng đồng thời cả LIC và ferritin huyết thanh.

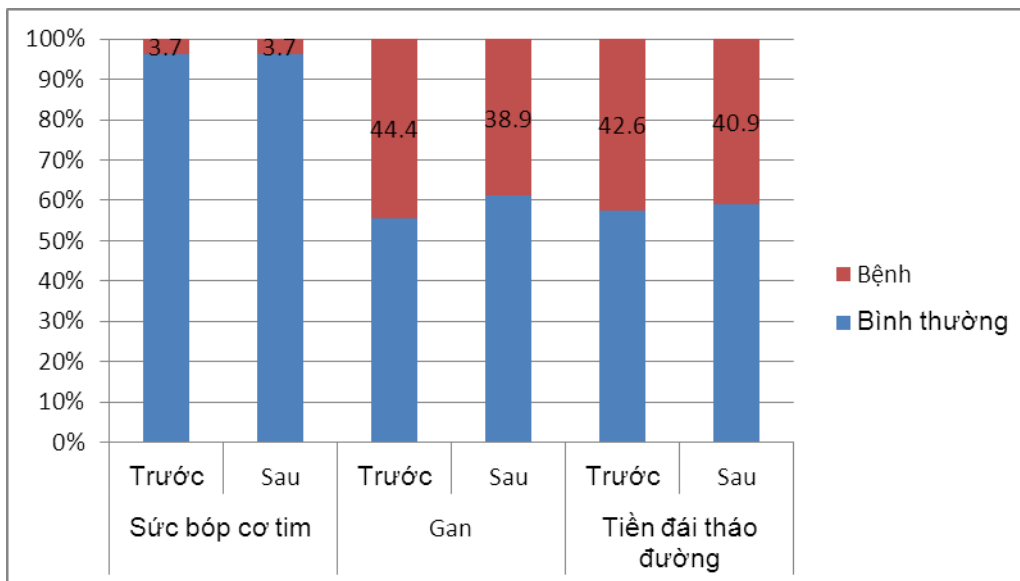
Bảng 3.36. Sự thay đổi LIC và T2* tim ở bệnh nhân có quá tải sắt tại tim sau 1 năm điều trị thải sắt thường xuyên (n = 14 *)

T2* tim \ LIC	LIC	LIC giảm (n,%)	LIC tăng (n,%)	Tổng cộng (n,%)
Tăng (tốt)		8 (57,1%)	3 (21,4%)	11 (78,6%)
Giảm (xấu)		3 (21,4%)	0 (0%)	3 (21,4%)
Tổng cộng		11 (78,6%)	3 (21,4%)	14 (100%)

(*) Trong 54 bệnh nhân được điều trị thải sắt, chỉ có 14 bệnh nhân có quá tải sắt tại tim.

Nhận xét: Sau 1 năm điều trị, trong 14 bệnh nhân có quá tải sắt tại tim, có 11 bệnh nhân có giảm sắt ở tim (T2* tim tăng) chiếm 78,6%. Có 57,1% bệnh nhân có giảm đồng thời cả sắt ở tim và ở gan.

3.2.4.3. Đặc điểm thay đổi các chỉ số đánh giá chức năng một số cơ quan ở bệnh nhân thalassemia sau 1 năm điều trị thải sắt



Biểu đồ 3.11. Tỷ lệ bệnh nhân có biến chứng tại các tổ chức trước và sau 1 năm điều trị thải sắt thường xuyên

Nhận xét: Sau điều trị thải sắt 1 năm, tỷ lệ bệnh nhân bị giảm sức bóp cơ tim không thay đổi (3,7%); tỷ lệ bệnh nhân bị xơ gan hoặc gan xơ hóa giảm từ 44,4% xuống 38,9%, sự thay đổi không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$; tỷ lệ

bệnh nhân bị tiền đái tháo đường (HbA1C > 5,7%) giảm từ 42,6% xuống 40,9%, sự thay đổi này không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

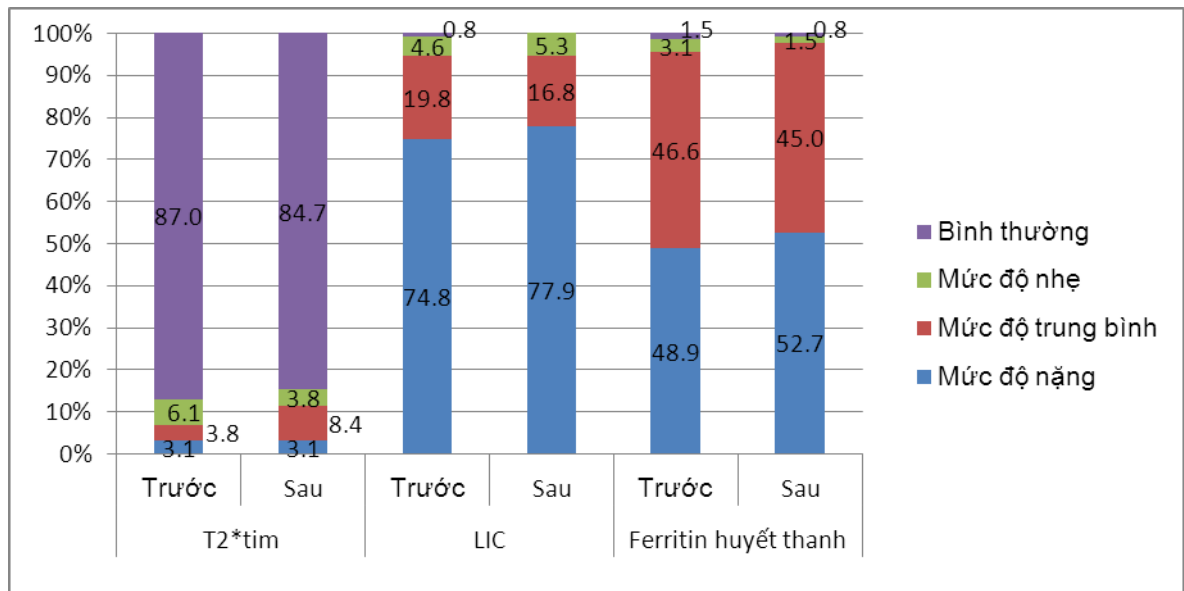
3.2.5. Sự thay đổi các chỉ số sắt ở nhóm bệnh nhân không điều trị thải sắt thường xuyên

3.2.5.1. Đặc điểm thay đổi các chỉ số đánh giá quá tải sắt

Bảng 3.37. Giá trị trung bình các chỉ số đánh giá quá tải sắt sau 1 năm không điều trị thải sắt thường xuyên (n = 131)

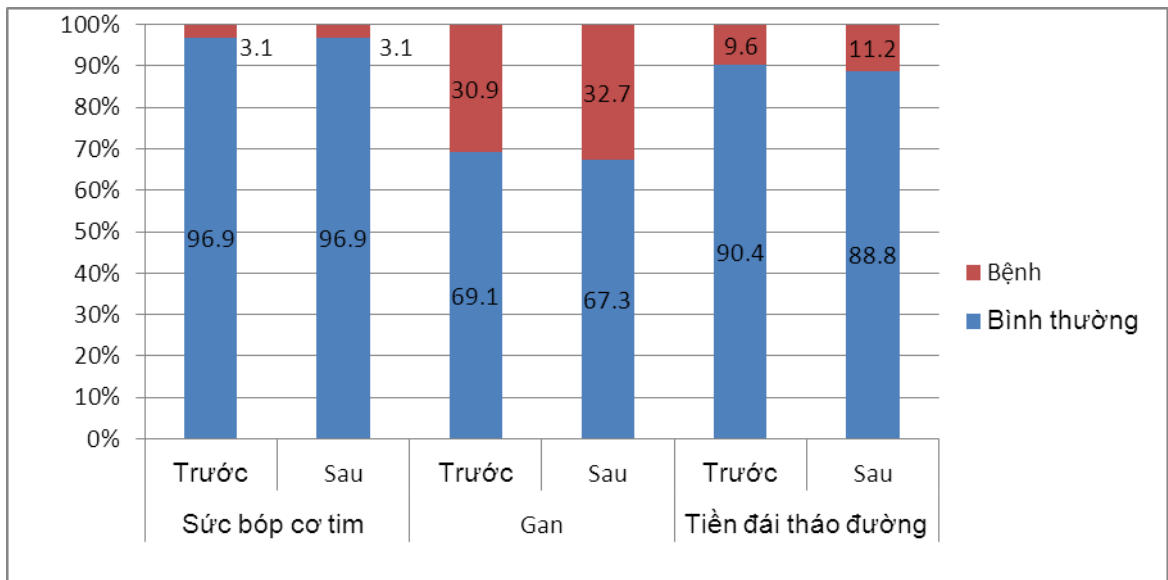
Chỉ số	Trước (1)	Sau (2)	p (1),(2)
LIC (mg/g gan khô)	18,6 ± 6,3	19,3 ± 6,3	< 0,001
T2* _{tim} (ms)	34,1 ± 12,0	33,1 ± 13,5	< 0,001
Ferritin huyết thanh (ng/ml)	2929,8 ± 1720,6	3117,8 ± 1819,6	< 0,001

Nhận xét: Sau 1 năm không điều trị thải sắt thường xuyên, 131 bệnh nhân có giá trị LIC trung bình tăng từ 18,6 lên 19,3 mg/g gan khô; nồng độ ferritin huyết thanh tăng từ 2929,8 lên 3117,8 ng/ml và giá trị T2*_{tim} giảm từ 34,1 xuống 33,1 ms. Các sự thay đổi này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$.



Biểu đồ 3.12. Tỷ lệ các mức độ quá tải sắt sau 1 năm không điều trị thải sắt thường xuyên (n = 131)

Nhận xét: Sau 1 năm không được điều trị thải sắt thường xuyên, trong 131 bệnh, tỷ lệ bệnh nhân bị quá tải sắt tại tim tăng lên từ 13% lên 15,3%. Tỷ lệ bệnh nhân bị quá tải sắt nặng ở gan tăng từ 74,8% lên 77,9%. Tỷ lệ quá tải sắt nặng ferritin huyết thanh tăng từ 48,9% lên 52,7%.



Biểu đồ 3.13. Tỷ lệ bệnh nhân có biến chứng tại các tổ chức sau 1 năm không điều trị thải sắt thường xuyên

Nhận xét: Sau 1 năm không được điều trị thải sắt thường xuyên, trong số 131 bệnh, tỷ lệ bệnh nhân bị giảm sức bóp cơ tim không thay đổi là 3,1%. Tỷ lệ bệnh nhân bị xơ gan/ gan xơ hóa tăng từ 30,9% tăng lên 32,7%. Tỷ lệ bệnh nhân bị tiền đái tháo đường ($HbA1C \geq 5,7\%$) từ 9,6% lên 11,2%. Nhưng sự thay đổi không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

CHƯƠNG 4

BÀN LUẬN

4.1. Bàn luận về đặc điểm đột biến gen globin được xác định bằng Strip Assay tại Viện Huyết học Truyền máu Trung ương

4.1.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Thalassemia là bệnh di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường. Người bệnh là người có 2 đột biến trên 1 cặp nhiễm sắc thể. Người mang gen bệnh có 1 đột biến. Nếu cả bố mẹ đều mang gen bệnh thalassemia thì thai nhi có thể bị mắc bệnh thalassemia. Vì vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi dùng kit Globin Strip Assay để xác định đột biến gen globin cho 3 nhóm đối tượng có khả năng mang gen bệnh thalassemia gồm bệnh nhân thalassemia, người nghi ngờ mang gen bệnh thalassemia và sản phụ có mang gen bệnh thalassemia (chẩn đoán trước sinh). Cụ thể, có 146 sản phụ trong đó 46 sản phụ và chồng cùng mang gen bệnh α -thalassemia, 100 sản phụ có chồng cùng mang gen bệnh β -thalassemia. 50 bệnh nhân gồm 16 bệnh nhân α -thalassemia và 34 bệnh nhân β -thalassemia. 70 người nghi ngờ mang gen bệnh thalassemia gồm 41 người nghi mang gen α -thalassemia và 29 người nghi mang gen β -thalassemia (bảng 3.1).

Bệnh nhân β -thalassemia đa số có biểu hiện mức độ nặng, nhóm bệnh β -thalassemia/HbE thường có biểu hiện mức độ trung bình hoặc nặng, nhóm bệnh nhân α -thalassemia (HbH) thường ở mức độ trung bình hoặc nhẹ. Vì thế, độ tuổi cũng như lượng Hb trung bình của bệnh nhân β -thalassemia thấp nhất trong 3 nhóm, với tuổi trung bình là 10,8 và lượng Hb trung bình là 71,9 g/l. Trong khi độ tuổi trung bình của nhóm β -thalassemia/HbE và α -thalassemia là 18,3 và 17,3 tuổi và lượng Hb trung bình lần lượt là 77,5 g/l và 86,9 g/l. Bệnh nhân α -thalassemia, do tổn thương 3 gen α -globin làm giảm tổng hợp chuỗi α -globin,

dẫn đến thừa tương đối chuỗi β -globin, tạo nên HbH (β_4). Vì thế, bệnh nhân α -thalassemia có tỷ lệ HbH là 14,6%, kết quả này tương tự như nghiên cứu của tác giả Viprakasit năm 2013 [25]. Nhóm bệnh nhân β -thalassemia có HbF tăng, trung bình là 54,4%, phù hợp với kết quả nghiên cứu của tác giả Phạm Quang Vinh năm 2009 [105]. Nhóm bệnh nhân β -thalassemia/HbE có tỷ lệ HbF là 28% và HbE là 43% cũng tương tự như nghiên cứu của tác giả Bạch Quốc Khánh năm 2015 [106], tác giả Phan Thị Thùy Hoa năm 2015 [107] (bảng 3.2).

Với 70 người nghi ngờ mang gen bệnh thalassemia, hầu hết các trường hợp không thiếu máu hoặc thiếu máu nhẹ (lượng Hb trung bình là 122,3 g/l (bảng 3.3), kết quả này tương tự như các nghiên cứu trên người mang gen bệnh thalassemia của tác giả Viprakasit năm 2013 và 2014 [25],[28], Nguyễn Thị Thu Hà năm 2016 [108] và Nguyễn Kiều Giang năm 2016 [109]. Có 26 người được chẩn đoán mang gen bệnh β -thalassemia có tỷ lệ HbA₂ tăng (5,2%) và HbF tăng (6,2%), kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của tác giả Nguyễn Khắc Hân Hoan năm 2013 với người mang gen β -thalassemia có tỷ lệ HbA₂ trung bình là 5,5% [36]. Tác giả Vip Viprakasit năm 2013 nghiên cứu trên 88 người thalassemia dị hợp tử β -thalassemia thấy tỷ lệ HbA₂ dao động từ 4,7 – 6,5% [110]. 41 người nghi ngờ mang gen bệnh α -thalassemia có tỷ lệ trung bình HbA là $97,7 \pm 0,5$ %, HbA₂ là $2,2 \pm 0,2$ %, không có HbH, kết quả trong nghiên cứu này cũng phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Thị Thu Hà [108] và Nguyễn Kiều Giang [109]. Những trường hợp α -thalassemia mất 1 hoặc 2 gen, có thể phát hiện được bằng xác định thành phần huyết sắc tố ở thời kỳ sơ sinh có sự xuất hiện của HbBart's với tỷ lệ thấp. Người trưởng thành có đột biến mất 1 hoặc 2 gen α -globin sẽ không có bất thường thành phần huyết sắc, tuy nhiên các chỉ số hồng cầu (MCV và MCH) thường thấp hơn giới hạn bình thường [25],[108]. Do vậy để chẩn

đoán chính xác người mang gen bệnh α -thalassemia cần phải làm xét nghiệm xác định đột biến gen [110],[111],[112],[113].

Thalassemia là bệnh di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường, khi cả vợ và chồng cùng mang gen bệnh thalassemia thì mỗi lần sinh có 25% nguy cơ con bị bệnh, trường hợp một người bị bệnh thalassemia và một người mang gen bệnh thì mỗi lần sinh có nguy cơ sinh con bị bệnh là 50%. Chính vì vậy, với các cặp vợ chồng cùng có gen bệnh thalassemia thì nhất thiết cần phải được tư vấn và chẩn đoán trước sinh cho mỗi lần sinh. Tại Việt Nam hiện nay, chưa thực hiện sàng lọc thalassemia cho tất cả các sản phụ nên rất nhiều cặp vợ chồng chỉ biết mình mang gen bệnh sau khi đã sinh ra con bị bệnh thalassemia. Đây là vấn đề rất cần được quan tâm, đặc biệt là chuyên ngành sản khoa, cần đưa sàng lọc thalassemia bắt buộc cho tất cả sản phụ có thai trong 3 tháng đầu thai kỳ. Việc này đã được một số quốc gia làm rất tốt như Thái Lan, Malaysia, Trung Quốc (tỉnh Quảng Châu) ...[114].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã làm xét nghiệm chẩn đoán trước sinh cho 146 sản phụ (bảng 3.4), trong đó có 123 sản phụ đã có con bị bệnh (kể cả 10 trường hợp phù thai) chiếm đến 84,3%, chỉ có 19 trường hợp có thai lần đầu (13%) và 4 trường hợp đã có con nhưng không bị bệnh thalassemia (2,7%). Từ kết quả nghiên cứu này cho thấy, việc tư vấn và sàng lọc thalassemia trước sinh đã chưa được thực hiện tốt nên dẫn đến những người cùng mang gen bệnh thalassemia đã kết hôn và sinh con bị bệnh.

Để hạn chế việc sinh ra trẻ bị bệnh cần phải chẩn đoán người mang gen cho các bạn trẻ lứa tuổi tiền hôn nhân để tư vấn 2 người cùng mang gen bệnh α -thalassemia hoặc β -thalassemia hoặc người mang gen β -thalassemia với người mang gen bệnh HbE, thì không nên kết hôn với nhau. Với cặp vợ chồng cùng mang gen bệnh, thì nhất định phải chẩn đoán trước sinh. Để làm được điều này thì các sản phụ có thai 3 tháng đầu, cần được xét nghiệm sàng

lọc bệnh thalassemia, nếu có mang gen bệnh thì cần làm xét nghiệm sàng lọc cho người chồng, nếu cả hai cùng mang gen bệnh thì phải chẩn đoán trước sinh khi thai được 16 – 20 tuần.

Tất cả 146 cặp vợ chồng đã được xác định đột biến gen bệnh thalassemia bằng kỹ thuật PCR thông thường hoặc Globin Strip Assay trước khi tiến hành làm xét nghiệm chẩn đoán trước sinh cho thai nhi. Chúng tôi đã phân tích cơ chế di truyền bệnh dựa trên sự kết hợp của các đột biến gen đã biết của cả hai vợ, chồng, từ đó xác định được nguy cơ thai nhi có thể bị bệnh α -thalassemia hay β -thalassemia (bảng 3.5). Trên cơ sở khoa học đó, chúng tôi đã tư vấn và lựa chọn loại kit Globin Strip Assay phù hợp. Cụ thể là 46 thai được chẩn đoán bệnh α -thalassemia bằng bộ kit α -Globin Strip Assay và 100 thai nhi được chẩn đoán bệnh β -thalassemia bằng bộ kit β -Globin Strip Assay (bảng 3.6 và 3.7).

Đột biến β^0 là đột biến làm mất khả năng tổng hợp chuỗi β -globin. β^E là đột biến trên gen β -globin làm tổng hợp ra biến thể của chuỗi β -globin (HbE), HbE có khả năng vận chuyển ô xy kém hơn so với HbA. Do vậy, nếu người bệnh có 2 đột biến β^0/β^0 sẽ có kiểu hình mức độ nặng. Người bệnh có đột biến β^0/β^E sẽ có kiểu hình mức độ trung bình đến nặng [3],[5],[6].

Trong nghiên cứu này, trong 146 cặp vợ chồng cho thấy: tỷ lệ các cặp vợ chồng cùng mang gen β^0 và β^0 là cao nhất (50 cặp chiếm 34,2 %), tiếp đến là kiểu phối hợp mang gen β^0 với β^E (38 cặp chiếm 26%), tổng cộng các trường hợp có nguy cơ sinh con bị bệnh β -thalassemia mức độ nặng hoặc β -thalassemia/ HbE mức độ từ trung bình đến nặng là 100 trường hợp (chiếm 64,5%) (số thứ tự từ 1 đến 8) ở bảng 3.5. Có 2 trường hợp bị bệnh β -thalassemia/HbE kết hôn với người mang gen bệnh β -thalassemia (số thứ tự 7,8). Hai trường hợp này, mỗi lần sinh có 25% nguy cơ con bị bệnh β -thalassemia, 25% nguy cơ con bị bệnh β -thalassemia/HbE, 25% nguy cơ con

mang gen bệnh β -thalassemia và 25% nguy cơ con mang gen bệnh HbE. Những cặp vợ, chồng có một người bị bệnh thalassemia và một người mang gen bệnh thalassemia đều có nguy cơ sinh con bị bệnh rất cao (50%).

Đột biến α^0 là đột biến làm mất tổng hợp chuỗi α -globin, phổ biến là các đột biến mất đoạn cả 2 gen $\alpha 1$ và gen $\alpha 2$ ($--^{SEA}$). Đột biến α^+ là đột biến làm giảm tổng hợp chuỗi α -globin, phổ biến là các đột biến mất đoạn gen $\alpha 2$ globin ($-\alpha^{3.7}$; $-\alpha^{4.2}$). Đột biến điểm trên gen α -globin tạo lên biến thể chuỗi α -globin (như HbCs, HbQs..) cũng được xếp loại như α^+ . Nếu người bệnh có hai đột biến α^0 (α^0/α^0), phổ biến là đột biến ($--^{SEA}/--^{SEA}$), cơ thể không tổng hợp được chuỗi α -globin, trong thời kỳ bào thai, 4 chuỗi γ -globin kết hợp với nhau tạo HbBart's (γ_4). HbBart's có ái lực cao với oxy nên không nhả oxy tại tổ chức vì vậy các tổ chức sẽ bị thiếu oxy. Với đặc điểm hoạt động của gen globin, khi thai ở 3 tháng cuối thai kỳ, không còn huyết sắc tố phôi thai Portland2 ($\xi_2\gamma_2$) nữa. Nếu thai nhi bị mất cả 4 gen α -globin, cơ thể thai nhi chỉ có HbBart's (γ_4) (100%), lúc đó thai sẽ bị thiếu oxy rất nặng dẫn đến suy tim, phù rau thai gây tử vong ở 3 tháng cuối thai kỳ hoặc ngay sau sinh [3],[6]. Ở Đông Nam Á, bệnh HbBart's là nguyên nhân chính (đến 90%) gây phù thai ở 3 tháng cuối của thai kỳ, trong đó đồng hợp tử đột biến mất 2 đoạn gen ($--^{SEA}/--^{SEA}$) chiếm tỷ lệ cao nhất [114]. Tại Quảng Tây - Trung Quốc với dân số 78 triệu người, có 4,1% người mang gen đột biến ($--^{SEA}$), ước tính mỗi năm có 425 thai nhi bị HbBart's [115].

Trong nghiên cứu này của chúng tôi, có 22 cặp vợ chồng cùng mang gen α^0 , chiếm 15% (số thứ tự 9 - 12) (bảng 3.5) nên có nguy cơ sinh con bị bệnh HbBart's là 25% cho mỗi lần sinh. Có 24 cặp vợ chồng, trong đó 1 người có mang gen α^0 và 1 người mang gen α^+ chiếm 16,4% (số thứ tự 13 - 19) (bảng 3.5), có nguy cơ sinh con bị bệnh HbH là 25% cho mỗi lần sinh. Đặc biệt

trong nghiên cứu này có tới 7 người có bị bệnh α -thalassemia HbH (α^0/α^+) kết hôn với người mang gen bệnh α -thalassemia (α^0/α hoặc α^+/α) (số thứ tự 10,11,12,16,19) (bảng 3.5), thì khả năng sinh con có 2 đột biến (HbBart's hoặc HbH) là 50%, khả năng con có 1 đột biến là 50%. Cụ thể, kết quả chẩn đoán trước sinh của 7 gia đình này có các kiểu gen: α^0/α (1 trường hợp), α^+/α^+ (1 trường hợp), α^0/α^+ (3 trường hợp) và α^0/α^0 (2 trường hợp). Có 1 cặp vợ chồng có kiểu gen α^0/α^+ và α^+/α^+ (số thứ tự 17 – bảng 3.5), thai nhi có kiểu gen α^+/α^+ . Có 1 cặp vợ chồng có kiểu gen α^+/α^+ và α^0/α (số thứ tự 15 – bảng 3.5), chẩn đoán thai nhi có kiểu gen α^0/α^+ .

Bảng 3.6 cho thấy trong 46 trường hợp chẩn đoán trước sinh bệnh α -thalassemia, có 2 nhóm nguy cơ bệnh đối với thai nhi là phù thai (HbBart's) và bệnh α -thalassemia (HbH). Trong 22 trường hợp có nguy cơ bị HbBart's, kết quả chẩn đoán cho thấy có 8 trường hợp bị bệnh với đột biến SEA đồng hợp tử ($--^{SEA}/--^{SEA}$) (HbBart's), chiếm 36,4%; 3 trường hợp bị bệnh HbH chiếm 13,6%; 8 trường hợp có 1 đột biến chiếm 36,4% và 3 trường hợp không có đột biến, chiếm 13,6%. Trong 24 trường hợp có nguy cơ bị α -thalassemia (HbH), kết quả chẩn đoán trước sinh có 8 trường hợp bị bệnh HbH chiếm 33,3%, 13 trường hợp có 1 đột biến (54,2%) và 3 trường hợp không có đột biến chiếm 12,5%.

Tổng số 46 thai nhi được chẩn đoán trước sinh, có 8 trường hợp bị HbBart's chiếm 17,4%, có 11 trường hợp bị bệnh HbH chiếm 23,9%, 21 trường hợp có 1 đột biến chiếm 46,7% và 6 trường hợp không có đột biến chiếm 13% (bảng 3.6). Theo nghiên cứu của tác giả Ngô Diễm Ngọc năm 2015 chẩn đoán trước sinh bệnh α -thalassemia cho 124 thai nhi với tỷ lệ bị bệnh (HbBart's và HbH) là 31,5%, mang gen bệnh là 45,2% [46]. Kết quả trong nghiên cứu này của chúng tôi, tỷ lệ thai nhi bị bệnh (36,4%) và mang gen bệnh (46,7%) là cao hơn so với tác giả Ngô Diễm Ngọc, điều này có thể

được lý giải là do trong nhóm nghiên cứu này ở 92 bố, mẹ (46 cặp) của thai nhi có tới 9 người bị bệnh (chiếm 9,8%).

Chẩn đoán trước sinh cho 100 thai nhi có nguy cơ mắc bệnh β -thalassemia, chúng tôi đã phát hiện được 32 trường hợp có 2 đột biến (thai nhi bị bệnh), chiếm 32%, có 43 thai nhi bị 1 đột biến, chiếm 43% và 25 trường hợp không có đột biến, chiếm 25% (bảng 3.6). Kết quả nghiên cứu của tác giả Ngô Diễm Ngọc năm 2015 chẩn đoán trước sinh bệnh β -thalassemia cho 187 thai nhi với tỷ lệ bị bệnh là 29,2%, mang gen bệnh là 44,3% [46]. Tỷ lệ thai nhi bị bệnh và mang gen bệnh trong nghiên cứu này của chúng tôi cao hơn so với tác giả Ngô Diễm Ngọc. Điều này có thể được lý giải là do trong nhóm nghiên cứu này của chúng tôi trên 200 bố, mẹ (100 cặp) của 100 thai nhi này có 2 người bị bệnh β -thalassemia/HbE.

Kết quả ở bảng 3.7 cho thấy, trong 59 alen đột biến phát hiện trên 46 thai nhi thì đột biến --^{SEA} chiếm tới 76,3%, đột biến HbCs chiếm 10,2%, đột biến 3.7 chiếm 10,2% và đột biến 4.2 chiếm 1,7%. Kết quả nghiên cứu này của chúng tôi tương đồng với các nghiên cứu chẩn đoán trước sinh của các tác giả Nguyễn Khắc Hân Hoan năm 2013 (đột biến --^{SEA} chiếm 81,1%, đột biến 3.7 chiếm 11,2%) [36]. Kết quả nghiên cứu chẩn đoán trước sinh của tác giả Ngô Diễm Ngọc năm 2015 (đột biến --^{SEA} chiếm 84,3%, đột biến HbCs chiếm 7,5%) [46]. Các kết quả nghiên cứu về đột biến gen α -globin trên thai nhi của các nghiên cứu trên và nghiên cứu của chúng tôi là hoàn toàn phù hợp với đặc điểm dịch tễ mang gen bệnh α -thalassemia trong cộng đồng. Các nghiên cứu của một số nước trong khu vực cho thấy tỷ lệ người mang gen bệnh α -thalassemia ở miền Bắc Thái Lan và Lào là 30-40%, ở Nam Trung Quốc là 8,5%, Malaysia là 4,5%, Philipines là 5% trong đó đột biến SEA chiếm khoảng 50% các đột biến α -globin [4],[17],[112].

Đột biến mất đoạn 2 gen α -globin ($--^{SEA}$) gây ra hồng cầu nhỏ (MCV < 80) nên có thể dễ dàng được phát hiện qua xét nghiệm tổng phân tích máu ngoại vi, còn đột biến mất 1 gen alpha (như $-\alpha^{3.7}$; $-\alpha^{4.2}$) hoặc đột biến điểm $\alpha^{Cs}\alpha$ chỉ làm chỉ số hồng cầu giảm nhẹ hoặc thậm chí không giảm nên những trường hợp này dễ bị bỏ sót qua sàng lọc tổng phân tích tế bào máu ngoại vi [25],[108],[109],[111]. Có lẽ vì lý do này, những sản phụ được gửi đến Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương tư vấn chẩn đoán trước sinh, tham gia trong nghiên cứu này chủ yếu là người có mang gen ($--^{SEA}$) với 37/46 người (80,4%).

Kết quả kiểu gen α -globin của 46 thai được chẩn đoán trước sinh gồm có 6 trường hợp bình thường ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$) chiếm 13%; 21 trường hợp có 1 đột biến, trong đó 20 trường hợp là $--^{SEA}/\alpha\alpha$; 19 trường hợp có 2 đột biến, trong đó có 8 ca đồng hợp tử đột biến SEA ($--^{SEA}/--^{SEA}$) gây HbBart's, 9 trường hợp HbH (kiểu gen $--^{SEA}/\alpha^{Cs}\alpha$; $--^{SEA}/\alpha^{3.7}\alpha$, $--^{SEA}/\alpha^{4.2}\alpha$, $--^{SEA}/\alpha^{C.2\ delT}\alpha$), 1 trường hợp kiểu gen $\alpha^{Cs}\alpha/\alpha^{Cs}\alpha$ và 1 trường hợp kiểu gen $\alpha^{Cs}\alpha/\alpha^{3.7}$. Tỷ lệ các kiểu gen đột biến trong nghiên cứu này của chúng tôi cũng tương tự như nghiên cứu của Nguyễn Khắc Hân Hoan [36] và Ngô Diễm Ngọc [46].

Với các đột biến α^+ -globin thường chỉ làm giảm nhẹ tổng hợp chuỗi α -globin, nên cho dù là đồng hợp tử hoặc dị hợp tử kép cũng không gây ảnh hưởng đến đời sống hồng cầu. Bằng bộ kit α -Globin Strip Assay chúng tôi xác định được một trường hợp đột biến HbCs đồng hợp tử ($\alpha^{Cs}\alpha/\alpha^{Cs}\alpha$) (phụ lục 6 hình 6.2) và một trường hợp dị hợp tử kép $\alpha^{Cs}\alpha/\alpha^{3.7}\alpha$. Hai kiểu phối hợp đột biến gen này chưa thấy có trong báo cáo nghiên cứu của tác giả Nguyễn Khắc Hân Hoan năm 2013 và tác giả Ngô Diễm Ngọc năm 2015. Đây là những đột biến có tỷ lệ thấp nên các trường hợp đồng hợp tử hoặc dị hợp tử kiểu này rất hiếm gặp, biểu hiện lâm sàng của trường hợp này là nhẹ [116],[117]. Do vậy mặc dù thai nhi có 2 đột biến nhưng chúng tôi đã tư vấn

để sản phụ giữ thai. Đến nay 2 trẻ đã trên 1 tuổi và không có biểu hiện thiếu máu. Tỷ lệ đột biến Hb Constant Spring (HbCs) trong cộng đồng thấp, nên với bộ panel hiện nay tại đa số các labo xét nghiệm tại nước ta chưa xác định được kiểu gen đồng hợp tử hay dị hợp tử. Vào thời điểm trước năm 2014, khoa Di truyền - Sinh học phân tử của Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương chưa xác định được đột biến HbCs bằng kỹ thuật PCR thông thường, việc sử dụng kit α -Globin Strip Assay đã xác định được đột biến HbCs trên các đối tượng người bệnh, người mang gen và thai nhi.

Trong nghiên cứu này có 1 trường hợp mẹ bị bệnh HbH ($--^{SEA}/\alpha^{c.2\ delT}$) (có thiếu máu mức độ trung bình) và bố mang gen dị hợp tử ($--^{SEA}/\alpha\alpha$), do trong bộ kit α -Globin Strip Assay không có đầu dò đột biến c.2 delT, nên khi chẩn đoán trước sinh trường hợp này, chúng tôi đã sử dụng kỹ thuật PCR đơn để xác định đột biến c.2 delT này. Đột biến c.2 delT (ATG > A-G) là đột biến điểm ở vị trí khởi đầu của gen $\alpha 2$ -globin gây nên α^+ -thalassemia, là đột biến hiếm gặp [118]. Trong báo cáo nghiên cứu của tác giả Nguyễn Khắc Hân Hoan năm 2013 trên 1251 alen đột biến α -globin, tác giả không gặp đột biến c.2 delT [36].

Theo kết quả ở bảng 3.8 về kiểu gen và tỷ lệ các alen đột biến β -globin của 100 thai nhi, trong số 107 alen đột biến có 7 kiểu đột biến, bao gồm đột biến Cd17 (37,4%); Cd42 (31,8%), Cd26 (HbE) (22,4%), -28(3,7%), Cd71/72 (2,8%), IVS1-1 (0,93%) và đột biến IVS2- 654 (0,93%). Theo nghiên cứu của tác giả Nguyễn Khắc Hân Hoan năm 2013, trong 104 alen của những thai nhi được phát hiện có đột biến β -globin thì 7 đột biến trên cũng chiếm 99%, trong đó HbE chiếm 49% [36]. Nghiên cứu của tác giả Ngô Diễm Ngọc năm 2015 cho thấy trong số 165 alen của những thai nhi được phát hiện có đột biến β -globin thì đột biến Cd17 cũng chiếm cao nhất là 33,3%; rồi đến Cd42 (28%) và Cd26 (HbE)(23,6%) [46]. Bảy đột biến trên đây là những đột biến phổ biến

nhất tại Đông Nam Á và tại Việt Nam [17],[35],[46],[110],[120]. Trong số 7 đột biến này, có 5 đột biến thuộc nhóm gây β^0 -thalassemia là đột biến Cd17, Cd41/42, Cd95, IVS1-1 và IVS2-654, 1 đột biến gây β^+ -thalassemia là đột biến -28 và 1 đột biến gây bệnh huyết sắc tố E là Cd26 (các đột biến được xác định tương ứng với kiểu gen β^0 -thalassemia hoặc β^+ -thalassemia dựa theo hướng dẫn của theo Liên đoàn Thalassemia quốc tế, phụ lục 2) [30],[121]. Như vậy, với tỷ lệ cao là các đột biến gây β^0 -thalassemia nên khi thai nhi có phối hợp 2 đột biến trên sẽ gây bệnh β -thalassemia mức độ nặng.

Kết quả kiểu gen β -globin của 100 thai nhi được nghiên cứu, có 32 thai nhi có 2 đột biến (chiếm 32%), 43 thai có 1 đột biến (43%) và 25 thai không có đột biến (25%). Trong 32 thai nhi bị bệnh β -thalassemia, 16 thai có kiểu gen β^0/β^0 gồm $\beta^{Cd17}/\beta^{Cd41/42}$, $\beta^{Cd41/42}/\beta^{Cd41/42}$, β^{C17}/β^{C17} , $\beta^{Cd17}/\beta^{Cd71/72}$, $\beta^{Cd41/42}/\beta^{IVS1-1}$ và $\beta^{Cd41/42}/\beta^{IVS2-654}$; 14 thai có kiểu gen β^0/β^E cụ thể là $\beta^{Cd41/42}/\beta^{Cd26}$ và $\beta^{Cd17}/\beta^{Cd26}$; 2 thai nhi có kiểu gen β^0/β^+ là β^{C17}/β^{-28} . Như vậy với kiểu gen của 32 thai nhi này đều sẽ gây biểu hiện bệnh mức độ bệnh trung bình nặng đến nặng cho trẻ sau khi ra đời [3],[11],[12],[28],[120]. Tỷ lệ các kiểu gen của thai nhi trong nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự như kết quả chẩn đoán trước sinh bệnh β -thalassemia của tác giả Ngô Diễm Ngọc [46] và tác giả Nguyễn Khắc Hân Hoan [36].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã thực hiện chẩn đoán trước sinh cho 146 thai, đã phát hiện 34,9% thai nhi có 2 đột biến, 43,8% thai nhi có 1 đột biến và 21,2% thai nhi không có đột biến. Tất cả các cặp vợ chồng đều đã được tư vấn về kết quả chẩn đoán thai nhi dựa trên kiểu gen của thai nhi. Những trường hợp thai nhi có nguy cơ bị bệnh nặng đều được tư vấn về nguy cơ bệnh tật của trẻ sau khi sinh, đặc biệt các trường hợp bệnh HbBart's có thể gây phù thai ở 3 tháng cuối của thai kỳ và có thể gây nhiễm độc thai nghén

cho sản phụ. Các gia đình có nguyện vọng đình chỉ thai đã được chuyển sang bệnh viện phụ sản để thực hiện đình chỉ thai.

4.1.2. Đặc điểm xác định đột biến gen globin ở người bệnh/ người mang gen bệnh thalassemia

Theo hướng dẫn của Liên đoàn Thalassemia quốc tế, chẩn đoán người bệnh thalassemia và người mang gen bệnh thalassemia dựa vào đặc điểm lâm sàng và các xét nghiệm tổng phân tích máu, xác định thành phần huyết sắc tố và xác định đột biến gen [7],[10].

Chẩn đoán bệnh nhân bị bệnh thalassemia dựa vào lâm sàng có hội chứng thiếu máu (mạn tính), hội chứng tan máu; chỉ số hồng cầu có thiếu máu nhược sắc hồng cầu nhỏ; thành phần huyết sắc tố có HbH trong α -thalassemia, HbF tăng ($> 4\%$) và hoặc HbA₂ tăng ($> 3,5\%$) trong β -thalassemia. Nếu thành phần huyết sắc tố có xuất hiện các huyết sắc tố bất thường như HbE, HbC, HbCs ..., được chẩn đoán bệnh huyết sắc tố. Thalassemia có thể phối với bệnh huyết sắc tố. β -thalassemia/HbE là sự kết hợp đột biến β^0 hoặc β^+ với đột biến HbE (Cd26), là thể bệnh phổ biến nhất ở Đông Nam Á [2]. HbH-Cs là sự phối hợp giữa đột biến mất đoạn 2 gen (α^0) với đột biến HbCs ($--/\alpha^{Cs}\alpha$), có tỷ lệ cao nhất trong nhóm bệnh nhân α -thalassemia nhập viện điều trị [25],[26].

Người nghi ngờ mang gen thalassemia không có biểu hiện lâm sàng, được chẩn đoán chủ yếu dựa vào xét nghiệm: chỉ số hồng cầu nhỏ (MCV < 85 , MCH < 28); thành phần huyết sắc tố có HbF tăng ($> 4\%$) và hoặc HbA₂ tăng ($> 3,5\%$) trong β -thalassemia, HbA₂ giảm nhẹ hoặc bình thường trong α -thalassemia; Các trường hợp thiếu máu nhẹ hoặc không thiếu máu mà có MCV < 85 fl, MCH < 28 pg và không bị thiếu sắt thì đều có thể nghi ngờ là người mang gen bệnh thalassemia. Nếu thành phần huyết sắc tố có tỷ lệ HbA₂

giảm hoặc tỷ lệ các loại huyết sắc tố bình thường thì có thể nghi ngờ là mang gen bệnh α -thalassemia [7],[25],[39]. Nếu thành phần huyết sắc tố có tỷ lệ $HbA_2 > 3,5\%$ và hoặc $HbF > 4\%$ thì có thể nghi ngờ là người mang gen bệnh β -thalassemia [7],[39]. Nếu thành phần huyết sắc tố có xuất hiện các huyết sắc tố bất thường như HbE, được chẩn đoán bệnh huyết sắc tố. HbE có tỷ lệ cao ở các nước Đông Nam Á [2],[4],[5],[6].

Từ kết quả xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu và phân tích thành phần huyết sắc tố ở bảng 3.2 và bảng 3.3, chúng tôi chẩn đoán sơ bộ có 16 bệnh nhân α -thalassemia và 34 bệnh nhân β -thalassemia, có 41 người nghi ngờ mang gen bệnh α -globin và 29 người nghi ngờ mang gen bệnh β -globin. Chúng tôi đã tiến hành xác định đột biến gen globin bằng bộ kit α -globin Strip Assay cho những trường hợp bị bệnh và nghi ngờ mang gen bệnh α -thalassemia, dùng bộ kit β -globin Strip Assay để xác định những trường hợp bệnh nhân và người nghi ngờ mang gen bệnh β -thalassemia.

Kết quả ở bảng 3.9 cho thấy, trong 41 người nghi ngờ mang gen bệnh α -thalassemia, 37 người đã xác định được có 1 đột biến, 4 người không phát hiện có đột biến gen α -globin. Trong số 37 alen đột biến được phát hiện, bao gồm 4 đột biến gặp ở trên nhóm bệnh nhân là đột biến $--^{SEA}$ (70,7%), HbCs (9,8%), 3.7 (7,3%), 4.2 (2,4%). Trong nghiên cứu này, tỷ lệ alen đột biến HbCs cao hơn đột biến 3.7. Sở dĩ có các kết quả trên là do những người mang gen này phần lớn là người nhà của những bệnh nhân thalassemia nên vì thế các đột biến của nhóm này cũng giống như ở nhóm bệnh nhân. Có 4 trường hợp chưa xác định được đột biến, có thể là do những đột biến đó không nằm trong danh sách đột biến được gắn trên kit α -globin Strip Assay. Theo tác giả Helene Puehringer và cộng sự năm 2007, các đột biến được gắn trên kit α -globin bao phủ được 90 – 99% các đột biến ở Địa Trung Hải, Trung

Đông, Đông Nam Á [9]. Theo nghiên cứu của Nguyễn Khắc Hân Hoan trên 1002 alen α -globin đột biến ở người mang gen, có 0,9% các alen đột biến không có trong kit α -globin Strip Assay [36].

Kết quả ở bảng 3.10 cho thấy kiểu gen và tỷ lệ các alen đột biến của 16 bệnh nhân α -thalassemia. Trên 16 bệnh nhân α -thalassemia, đã xác định được 32 alen đột biến bao gồm 5 kiểu đột biến là đột biến SEA (50%), đột biến HbCs (28,1%), đột biến 3.7 (12,5%), đột biến Pakse (Ps) (6,3%) và đột biến 4.2 (3,1%). Kiểu gen của 16 bệnh nhân chia 2 nhóm: nhóm mất 2 gen phối hợp đột biến điểm tạo Hb bất thường, kiểu gen $--/\alpha^T\alpha$ ($--^{SEA}/\alpha^{Cs}\alpha$ và $--^{SEA}/\alpha^{Ps}\alpha$) có 11 bệnh nhân (chiếm 68,8%) và nhóm mất 3 gen $--/-\alpha$ ($--^{SEA}/\alpha^{3.7}\alpha$ và $--^{SEA}/\alpha^{4.2}\alpha$) có 5 bệnh nhân chiếm 31,2%. Đặc điểm lâm sàng có sự khác biệt rõ rệt giữa hai nhóm kiểu gen. 11 bệnh nhân có kiểu đột biến $--/\alpha^T\alpha$ có Hb trung bình là $82,2 \pm 18,6$ g/l, những bệnh nhân này đôi khi phải truyền máu. Năm bệnh nhân bị mất 3 gen α -globin có kiểu đột biến $--/-\alpha$ có Hb trung bình là $97,4 \pm 14,7$ g/l. Những bệnh nhân ở nhóm này thường không phải truyền máu. Tỷ lệ các kiểu gen của bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự như kết quả nghiên cứu của tác giả Fucharoen Suthat năm 2009, trong 361 bệnh nhân α -thalassemia, kiểu gen $--^{SEA}/\alpha^{Cs}\alpha$ có tỷ lệ cao nhất chiếm 51%, tiếp đến là kiểu gen $--^{SEA}/\alpha^{3.7}\alpha$ chiếm 38% [26]. Các nghiên cứu về tỷ lệ người mang gen bệnh α -thalassemia trong cộng đồng ở khu vực Đông Nam Á, Trung Quốc, Việt Nam, cho thấy đột biến 3.7 chiếm tỷ lệ cao nhất là từ 1,7 -22% [19], đột biến HbCs có tỷ lệ thấp hơn là 0,1 - 6% [17],[19],[26]. Tuy nhiên, các nghiên cứu trên bệnh nhân α -thalassemia tại các bệnh viện cho thấy tỷ lệ đột biến HbCs cao hơn so với đột biến 3.7. Điều này được giải thích là do đột biến HbCs gây biểu hiện lâm sàng nặng hơn so với đột biến 3.7. Đột biến HbCs xảy ra trên gen $\alpha 2$ -globin tại vị trí bộ ba 3 kết

thức TAA \rightarrow CAA, làm kéo dài quá trình dịch mã và tạo nên 1 chuỗi globin dài hơn so với chuỗi α -globin bình thường 31 acid amin. Ở bệnh nhân α -thalassemia HbH-Cs ($--^{SEA}/\alpha^{Cs}\alpha$), phân tử Constant Spring cạnh tranh với chuỗi α -globin để kết hợp với chuỗi β -globin, do đó làm giảm HbA, vì thế 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. Bệnh nhân HbH-Ps có cơ chế bệnh sinh và biểu hiện như HbH-Cs [119]. Trong khi bệnh nhân α -thalassemia (HbH) ($--^{SEA}/\alpha^{3.7}\alpha$ hoặc $--^{SEA}/\alpha^{4.2}\alpha$) thường chỉ thiếu máu nhẹ, không cần truyền máu nên phần lớn bệnh nhân không cần điều trị.

Bằng α -Globin Strip Assay chúng tôi đã xác định được 2 bệnh nhân có đột biến hiếm gặp là có kiểu gen đột biến là $--^{SEA}/\alpha^{Ps}\alpha$ (hình 3.3 – phụ lục). Đột biến Pakse (Ps), là đột biến trên gen $\alpha 2$ tại vị trí kết thúc (TAA>TAT), được mô tả gặp ở người Thái Lan và Lào [118]. HbH-Ps và HbH-Cs có biểu hiện lâm sàng giống nhau và dễ bị nhầm lẫn nếu chỉ dựa vào phân tích thành phần huyết sắc tố [26],[119]. Hai bệnh nhân HbH-Ps gồm 1 bệnh nhân nữ, sinh năm 2013, có bố người Vĩnh Phúc, mẹ người Hà Nội. Trẻ được phát hiện thiếu máu và phải truyền máu lần đầu khi 13 tháng tuổi, sau đợt viêm họng. Bệnh nhân được khám định kỳ 2 tháng/lần, Hb duy trì trong khoảng 85 – 93 g/l. Và 1 bệnh nhân nam sinh năm 1985 ở Yên Bái, Hb trung bình 77 – 90 g/l. Những bệnh nhân được xếp vào nhóm không phụ thuộc truyền máu (NTDT). Nghiên cứu tại Việt Nam của tác giả Nguyễn Khắc Hân Hoan năm 2013 tại bệnh viện Từ Dũ, trong 1002 alen đột biến α -globin không có đột biến Hb Pakse [36]. Nghiên cứu của tác giả Sean O’Riordan năm 2010 trên 1431 người của 4 dân tộc Kinh, Tày, Nùng và Stieng ở Việt Nam, đã phát hiện có 411 alen α -globin đột biến, trong đó có 4 alen đột biến Pakse gặp ở người dân tộc Stieng [19].

Kết quả ở bảng 3.11 cho thấy, trong 29 người nghi ngờ mang gen bệnh β -thalassemia, 26 người được xác định có 1 đột biến, 3 người không phát hiện đột biến gen β -globin. Trong 26 alen đột biến được phát hiện, có 5 đột biến, nằm trong số 9 đột biến đã phát hiện ở bệnh nhân là đột biến Cd41/42 (34,5%), Cd17 (31%), Cd26 (10,3%), IVS1-1 (6,9%), IVS2-654 (6,9%). Các đột biến này gặp khá phổ biến ở Việt Nam và Đông Nam Á [18],[110]. Có 5 người nghi ngờ mang gen bệnh β -thalassemia chưa xác định được đột biến, có thể là do những đột biến này không có trong danh sách các đột biến được gắn trên bộ kit β -globin Strip Assay.

Bảng 3.12 mô tả kiểu gen và tỷ lệ các alen đột biến của 34 bệnh nhân β -thalassemia. Trong số này, có 29 bệnh nhân được xác định có 2 đột biến và 5 bệnh nhân chỉ xác định được 1 đột biến β -globin. Trong tổng số 63 alen đột biến được xác định gồm có 9 kiểu đột biến gồm Cd26 (33,3%), Cd17 (17,5%), Cd41/42 (15,9%), IVS1-1 (11,1%), -28 (7,9%), IVS2-654 (6,4%), Cd71/72 (4,8%), Cd95 (1,6%) và Cd8/9 (1,6%). Có 14 kiểu gen (số thứ tự 1 -16) của 27 bệnh nhân theo 5 nhóm: nhóm β^0/β^0 có 8 bệnh nhân gồm các kiểu gen: $\beta^{Cd17}/\beta^{Cd41/42}$; $\beta^{Cd41/42}/\beta^{Cd41/42}$; $\beta^{Cd17}/\beta^{Cd95}$; $\beta^{Cd17}/\beta^{IVS1-1}$; $\beta^{IVS1-1}/\beta^{IVS1-1}$; $\beta^{Cd71/72}/\beta^{IVS2-654}$; $\beta^{Cd8/9}/\beta^{IVS1-1}$; nhóm β^0/β^+ có 1 bệnh nhân β^{Cd17}/β^{-28} ; nhóm β^+/β^+ có 1 bệnh nhân là β^{-28}/β^{-28} ; nhóm phối hợp β -thalassemia/HbE gồm β^0/β^E có 17 bệnh nhân cụ thể kiểu gen là $\beta^{Cd17}/\beta^{Cd26}$; $\beta^{Cd41/42}/\beta^{Cd26}$; $\beta^{Cd71/72}/\beta^{Cd26}$; $\beta^{IVS1-1}/\beta^{Cd26}$; $\beta^{IVS2-654}/\beta^{Cd26}$; β^+/β^E có 1 bệnh nhân là β^{-28}/β^{Cd26} và 1 trường hợp β^E/β^E .

Qua đây có thể thấy, với 9 loại đột biến gen phổ biến đã tạo nên sự phối hợp kiểu gen rất đa dạng và có đầy đủ các nhóm kiểu gen phổ biến ở Đông Nam Á như lý thuyết gồm: β^0/β^0 , β^0/β^+ , β^+/β^+ , β^0/β^E , β^+/β^E , β^E/β^E [6],[7],[10].

Đặc điểm đột biến gen có ảnh hưởng đến mức độ biểu hiện lâm sàng. Kết quả ở bảng 3.13, với những bệnh nhân có đột biến β^0/β^0 , có nồng độ Hb trung bình thấp (70,9 g/l), bệnh nhân phải phụ thuộc truyền máu. Nhóm bệnh nhân

có đột biến β^0/β^E , có nồng độ huyết sắc tố trung bình là 75,8 g/l, mức độ thiếu máu từ trung bình đến nặng, nên cùng β -thalassemia/HbE nhưng có bệnh nhân được xếp vào nhóm phụ thuộc truyền máu, có bệnh nhân ở nhóm không phụ thuộc truyền máu [11],[27]. Điều này là do nồng độ HbF còn chịu sự tác động của những gen trên nhiễm sắc thể khác như locus XmnI ở vùng khởi động gen Gamma 2, vùng HBS1L-MYB trên cánh dài nhiễm sắc thể số 6, gen BCL11A cánh ngắn nhiễm sắc thể số 2 [122].

Có 5 bệnh nhân (số thứ tự 17, 18,19) chỉ mới xác định được 1 đột biến, có thể là do đột biến thứ hai của những bệnh nhân này không nằm trong danh sách đột biến được gắn trên bộ kit β -globin Strip Assay. Tác giả Menon PK và cộng sự đã nghiên cứu ứng dụng β -globin Strip Assay, cho thấy bộ kit β -globin Strip Assay có khả năng phát hiện được 93,7% các đột biến gen β -globin ở Ả Rập Xê út [41]. Theo nghiên cứu của Nguyễn Khắc Hân Hoan trên 498 alen β -globin đột biến ở người mang gen, có 1,6% các alen đột biến không có trong kit β -globin Strip Assay [36].

Đặc biệt trong nghiên cứu này, bằng bộ kit β -globin Strip Assay, chúng tôi đã chẩn đoán được 1 bệnh nhân có kiểu gen $\beta^{Cd8/9}/\beta^{IVS\ 1-1}$ (phụ lục 6 hình 6.4). Đột biến Cd8/9 (+G) là đột biến làm thay đổi trình tự nucleotide dẫn đến mất khả năng dịch mã (đột biến khung đọc – *Frameshift*) gây ra kiểu gen β^0 . Như vậy, người bệnh có kiểu gen β^0/β^0 . Trên lâm sàng, bệnh nhân này là nam, sinh năm 2014, bố mẹ cùng có quê quán Nam Định. Bệnh nhân có biểu hiện thiếu máu và truyền máu lần đầu từ 6 tháng tuổi, Hb cơ bản dưới 50 g/l. Bệnh nhân được chẩn đoán là β -thalassemia mức độ nặng (β -thalassemia major), phải phụ thuộc truyền máu định kỳ hàng tháng. Đột biến Cd8/9 (+G) được mô tả là đột biến gặp ở người Ấn Độ gốc Châu Á và ở người Nhật [30]. Đột biến Cd8/9 (+G) hiếm gặp Đông Nam Á. Một nghiên cứu ở Malaysia trên 252 bệnh nhân β -thalassemia thể nặng chỉ gặp 1 trường hợp có đột biến này [123].

Tác giả Nguyễn Khắc Hân Hoan nghiên cứu trên 441 alen có đột biến β -globin năm 2013, Ngô Diễm Ngọc năm 2015 nghiên cứu trên 374 người là các cặp vợ chồng có nguy cơ cao sinh con bị bệnh β -thalassemia, cả hai tác giả đều không báo cáo có đột biến Cd8/9 [36],[46].

Tổng hợp tất cả các đột biến α -globin đã được phát hiện bằng kit α -globin Strip Assay trong nghiên cứu của chúng tôi trên 3 nhóm đối tượng là người bệnh, người mang gen và chẩn đoán trước sinh ở thai nhi (bảng 3.14), có 127 alen đột biến với 5 kiểu đột biến, trong đó đột biến SEA chiếm tỷ lệ cao nhất là 70,9%, tiếp đến là đột biến HbCs, đột biến 3.7, đột biến 4.2 và đột biến Pakse với tỷ lệ lần lượt là 15%, 10,2%, 2,4%, 1,6%. Kết quả nghiên cứu này của chúng tôi phù hợp với các nghiên cứu trong nước của các tác giả Ngô Diễm Ngọc [46], Nguyễn Khắc Hân Hoan [36] và cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của tác giả Suthat Fuchareon và Vip Viprakasit ở Thái Lan [26].

Bảng 3.15 tổng hợp tất cả các đột biến β -globin đã được phát hiện bằng bộ kit β -globin Strip Assay trên cả 3 nhóm đối tượng là người bệnh, người mang gen và thai nhi. Có 196 alen đột biến với 9 kiểu đột biến là Cd17 (30,6%), Cd41/42 (27,6%), Cd26 (24,5%), IVS1-1 (5,1%), -28 (4,6%), IVS2-654 (3,6%), Cd71/72 (3,1%), Cd95 (0,5%) và Cd8/9 (0,5%). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với kết quả nghiên cứu của Trần Tuấn Anh năm 2016 trên 400 người bệnh và mang gen bệnh, với tỷ lệ các đột biến hay gặp nhất là Cd17 (31,5%), Cd41/42 (27,2%) và Cd26 (29,9%) [120]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với nghiên cứu Ngô Diễm Ngọc trên các đối tượng ở miền Bắc Việt Nam với tỷ lệ các đột biến hay gặp nhất theo thứ tự là Cd41/42 (31,2%), Cd17 (28,6%), Cd26 (23,2%) [46]. Nghiên cứu của tác giả Pan HF, Long GF (2007) ở Quảng Tây, Trung Quốc cho thấy tỷ lệ các loại đột biến β -globin là Cd41/42 (39,4%), Cd17 (32%), Cd71/72 (7,4%), -28 (5,8%), IVS-2-654 (5,8%), Cd26 (Hb E) (4%), IVS1-1 (G >A) (3,7%), và Cd43(G >T)

(1.9%) [18]. Tác giả Nguyễn Khắc Hân Hoan năm 2013 nghiên cứu trên các đối tượng ở miền Nam Việt Nam, cho thấy tỷ lệ các đột biến hay gặp nhất theo thứ tự là Cd26 (45,4%), Cd17 (15,8%), Cd41/42 (13,6%), - 28 (4,4%) [36]. Như vậy, về kiểu đột biến β -globin hay gặp có sự phù hợp giữa các nghiên cứu đã được thực hiện, tuy nhiên về tỷ lệ các đột biến có sự khác nhau giữa miền Nam và miền Bắc. Khu vực miền Nam, có tỷ lệ Cd26 (HbE) cao hơn so với miền Bắc.

Sau khi sử dụng kỹ thuật β -globin Strip Assay, còn 5 bệnh nhân β -thalassemia và 3 người nghi ngờ mang gen β -thalassemia chưa xác định được hết đột biến. Chúng tôi đã tiến hành giải trình gen β -globin theo phương pháp giải trình tự thế hệ mới Miseq cho 8 đối tượng này, kết quả ở bảng 3.16 cho thấy có 3 bệnh nhân đã được xác định có thêm đột biến, 2 người mang gen đã xác định được đột biến. Ba đột biến xác định được thêm là -88 (C \rightarrow T), -90 (C \rightarrow T) và Cd35 (TAC \rightarrow TAA). Tác giả Swee Lay Thein đã mô tả 2 đột biến -88 và -90 ở vị trí yếu tố điều hòa tại vùng khởi động của gen β -globin, do vậy đã ảnh hưởng làm giảm quá trình sao chép chuỗi β -globin gây bệnh β^+ -thalassemia. Đột biến -88 (C \rightarrow T) (β^{++}) thường gặp ở người Mỹ da đen, người Ấn Độ gốc Châu Á. Đột biến -90 (C \rightarrow T) (β^+) thường gặp ở người Bồ Đào Nha [30]. Đột biến Cd35 (C \rightarrow A) là đột biến tạo codon vô nghĩa, làm mất khả năng dịch mã nên không tổng hợp được chuỗi β -globin, được xếp vào nhóm β^0 . Đột biến này được miêu tả gặp ở người Thái Lan.... Cả 5 trường hợp đột biến này đều là dân tộc Kinh, sống tại các tỉnh bắc bộ. Bảng 3.17 cho thấy đặc điểm chỉ số hồng cầu và đặc điểm thành phần huyết sắc tố của 3 bệnh nhân và 2 người mang gen có đột biến hiếm gặp. Đột biến -88 khi phối hợp với đột biến β^0 ($\beta^{Cd 41/42}/\beta^{-88}$), người bệnh có Hb trung bình 74 g/l. Người mang đột biến gen β^+ không thiếu máu, β^{-88}/β có Hb 142 g/l; β^{-90}/β có Hb là 133 g/l, tuy nhiên cả 2 người đều có MCV nhỏ (74,1 và 73,3 fl) và MCH thấp

(24,2 và 22,8 pg) và thành phần HbA2 tăng (5,6% và 5,8%). Người bệnh có đột biến $\beta^{Cd35}/\beta^{Cd26}$, có Hb 74 g/l, MCV 75,5 fl, MCH là 22,8 pg; thành phần Hb có HbF tăng cao (10%) và HbE (25,3%).

Trong các nghiên cứu của các tác giả trong nước là Nguyễn Khắc Hân Hoan năm 2013 [36] và Ngô Diễm Ngọc năm 2015 [46], cũng như các tác giả nước ngoài như Syahzuwan Hassan (2012) ở Malaysia trên 169 đối tượng [40], XM Xu, YQ Zhou (2004) trên 1811 đối tượng ở Trung Quốc [17], Vip Viprakasit (2013) thống kê 138 alen đột biến ở Thái Lan [110], đều không đề cập đến đột biến -88 và -90. Tác giả Vip Viprakasit (2013) báo cáo có 2 trường hợp có đột biến Cd35 (C \rightarrow A) trong 138 người có đột biến gen β -globin [110]. Qua các nghiên cứu này cho thấy, ba đột biến -88, -90 và Cd35 (C \rightarrow A) này rất hiếm gặp ở Việt Nam cũng như các nước trong khu vực, chính vì vậy cũng có thể lý giải được sự vắng mặt của 3 đột biến này trong bộ kit β -Globin Strip Assay.

Như vậy, qua sử dụng 103 bộ kit α -Gobin Strip Assay đã xác định được 123 alen đột biến gen α -globin, còn 4 trường hợp nghi ngờ có đột biến chưa xác định được (khả năng phát hiện là 96,9%). Những đột biến này phổ biến, thường gặp ở người Việt Nam, đó là đột biến SEA, HbCs, 3.7, 4.2 và đột biến hiếm gặp là đột biến Pakse (phụ lục 6 hình 6.3).

Sử dụng 163 bộ kit β -Gobin Strip Assay đã xác định được 188 alen đột biến gen β -globin, có 8 alen nghi có đột biến chưa xác định được (khả năng phát hiện được đột biến là 95,9%). Những đột biến này phổ biến, thường gặp ở Việt Nam, đó là Cd17, Cd41/42, Cd26, Cd71/72, Cd95, IVS1-1, IVS2-654, -28 và đột biến hiếm gặp là Cd8/9 (phụ lục 6 hình 6.4). Ngoài ra, kỹ thuật này còn phát hiện được những trường hợp đồng hợp tử hiếm gặp như $\alpha^{Cs}\alpha/\alpha^{Cs}\alpha$ (phụ lục 6 hình 6.2.) và β^{-28}/β^{-28} (phụ lục 6 hình 6.5). Tuy nhiên, với 21 đột biến có trong bộ kit α -globin Strip Assay và 22 đột biến trong bộ kit β -globin

Strip Assay thì vẫn chưa thể xác định được hết các đột biến hiếm gặp như đột biến C2delT trên gen α -globin, đột biến -88, -90, Cd35 trên gen β -globin và một số đột biến khác nữa. Các nghiên cứu ở nước ngoài cũng cho thấy bộ kit α -globin Strip Assay có khả năng chẩn đoán được 90 – 99% các đột biến ở Địa Trung Hải, Trung Đông, Đông Nam Á và bộ kit β -globin Strip Assay có khả năng phát hiện được 93,7% các đột biến ở Ả Rập Xê út [9],[41]. Như vậy, việc sử dụng bộ kit Strip Assay có khả năng cao phát hiện được đột biến trong 1 lần thực hiện xét nghiệm. Điều này đã rút ngắn thời gian chẩn đoán.

Tuy nhiên, các nhà khoa học đã chứng minh gen β -globin có cơ chế hoạt động rất phức tạp, hoạt động ở mức độ đơn gen cũng như toàn bộ cụm gen. Hiện nay đã phát hiện được trên 200 đột biến gây bệnh β -thalassemia, trong đó đột biến tại gen β -globin chiếm trên 75% [3],[22],[30]. Hoạt động của gen α -globin cũng rất phức tạp, phía trước cụm gen α -globin khoảng 40 kb là vùng tham gia điều hòa hoạt động của gen α -globin. Có trường hợp tổn thương vùng điều hòa, và mặc dù không tổn thương gen α -globin nhưng có biểu hiện lâm sàng như có đột biến tại gen α -globin [29],[31]. Chính vì vậy, hiện nay chưa thể có 1 bộ kit xét nghiệm nào có thể xác định được hết các đột biến. Thậm chí giải trình đoạn gen α -globin và β -globin cũng không thể phát hiện được hết các đột biến hiếm gặp.

Từ kết quả nghiên cứu ở trên, chúng tôi nhận thấy rằng với bộ kit α -globin Strip Assay có 21 đột biến, nhưng chỉ có 5 đột biến được phát hiện, 16 đột biến còn lại trong kit này rất hiếm ở Việt Nam nên không phát hiện được trong nghiên cứu này. Bộ kit β -globin Strip Assay với 22 đột biến, đã phát hiện được 9 đột biến, 13 đột biến còn lại cũng rất hiếm gặp ở Việt Nam. Thực tế, tại Việt Nam cũng như một số quốc gia, các phòng xét nghiệm tự xây dựng bộ panel có các đột biến hay gặp nhất ở từng vùng miền đó để chẩn đoán cho phần lớn bệnh nhân/ người mang gen bệnh thalassemia. Điều này đã tiết kiệm

được kinh phí so với việc mua bộ kit có nhiều đột biến. Nhưng, mỗi bộ panel thường chỉ có thể chẩn đoán được một vài đột biến. Tại Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương, để chẩn đoán được 5 đột biến trên gen α -globin như trên, cần sử dụng 3 bộ panel; để chẩn đoán được 9 đột biến gen β -globin ở trên cần sử dụng 3 bộ panel. Việc sử dụng nhiều panel sẽ làm mất nhiều thời gian hơn trong chẩn đoán.

Từ phân tích các ưu, nhược điểm của việc sử dụng bộ kit với panel nhiều đột biến và việc sử dụng các panel tự xây dựng của các phòng xét nghiệm. Chúng tôi xin được đề xuất việc ứng dụng các kỹ thuật để xác định đột biến gen globin như sau: Tại các phòng xét nghiệm của các bệnh viện có nhiều bệnh nhân thalassemia, nên sử dụng bộ panel với các đột biến phổ biến ở khu vực, địa phương do đơn vị thiết kế để tiết kiệm kinh phí; chỉ sử dụng bộ kit khi các xét nghiệm sử dụng bộ panel của cơ sở âm tính. Đối với các cơ sở không tự thiết kế được panel riêng, những cơ sở chẩn đoán người mang gen, đặc biệt là chẩn đoán trước sinh (như bệnh viện phụ sản) thì nên sử dụng bộ kit có nhiều đột biến để có thể chẩn đoán sớm, tiết kiệm thời gian. Bên cạnh đó, cần ứng dụng kỹ thuật giải trình tự gen để xác định các đột biến hiếm gặp hơn nữa tại các cơ sở có điều kiện về nhân lực, trang thiết bị và kỹ thuật cao.

Do mỗi dân tộc, vùng miền có kiểu đột biến và tỷ lệ các kiểu đột biến khác nhau, vì vậy mỗi quốc gia, mỗi vùng nên có nghiên cứu dịch tễ về đột biến gen bệnh thalassemia. Trên cơ sở, đó xây dựng những bộ panel để chẩn đoán các đột biến một cách phù hợp nhất, để góp phần nâng cao hiệu quả trong chẩn đoán và giảm chi phí xét nghiệm.

4.2. Bàn luận về kết quả nghiên cứu ứng dụng MRI trong chẩn đoán và đánh giá hiệu quả điều trị quá tải sắt ở bệnh nhân thalassemia

4.2.1. Đặc điểm chung đối tượng nghiên cứu

Thalassemia là bệnh di truyền liên quan tới các đột biến gen tổng hợp chuỗi globin nằm trên nhiễm sắc số 11 và 16. Bệnh có nhiều mức độ biểu

hiện nặng nhẹ khác nhau tùy theo kiểu đột biến và sự phối hợp giữa các đột biến của gen tổng hợp chuỗi globin. Từ năm 2013, bên cạnh việc phân loại thalassemia theo cơ chế đột biến là α -thalassemia và β -thalassemia, phân loại theo mức độ nặng, trung bình và nhẹ dựa trên đặc điểm lâm sàng và xét nghiệm thì Liên đoàn Thalassemia quốc tế còn phân loại thalassemia theo nguyên tắc điều trị truyền máu gồm nhóm phụ thuộc truyền máu và nhóm không phụ thuộc truyền máu. Mức độ bệnh nặng thường gây thiếu máu, biểu hiện rất sớm khi trẻ mới được vài tháng tuổi (trước 2 tuổi), người bệnh phải phụ thuộc vào truyền máu suốt đời, nhóm bệnh này thường gặp trong thể bệnh β -thalassemia và β -thalassemia/HbE. Mức độ bệnh trung bình và nhẹ, người bệnh thường thích nghi với mức độ thiếu máu nhẹ nên chỉ phải truyền máu trong một số giai đoạn nhất định, do vậy tuổi phát hiện bệnh thường muộn hơn nhóm phụ thuộc truyền máu, thể bệnh không phụ thuộc truyền máu chủ yếu gặp ở thể bệnh β -thalassemia/HbE và α -thalassemia. [3],[10],[11],[12].

Bảng 3.18 cho thấy 434 bệnh nhân được nghiên cứu có độ tuổi từ 6-63 tuổi. Số lượng bệnh nhân ở nhóm β -thalassemia/HbE nhiều nhất là 284 chiếm 65,4%, số bệnh nhân nhóm β -thalassemia là 81, chiếm 18,9%; số bệnh nhân nhóm α -thalassemia là 69 chiếm 15,9%, tỷ lệ các nhóm bệnh trong nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với báo cáo của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) là nhóm bệnh nhân β -thalassemia/HbE gặp nhiều ở Đông Nam Á chiếm 66% [2]. Nhóm phụ thuộc truyền máu (TDT) có 83 bệnh nhân chiếm 19,1%, nhóm không phụ thuộc truyền máu (NTDT) gồm 351 bệnh nhân chiếm 80,8%. Độ tuổi trung bình của nhóm bệnh nhân TDT là 13,8; độ tuổi trung bình của nhóm bệnh nhân NTDT là 28,2 tuổi, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Lượng Hb trung bình khi vào viện của nhóm TDT là 64,3 g/l, nhóm NTDT là 74,5 g/l, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Biểu đồ 3.1 cho thấy tỷ lệ bệnh nhân nam là 48,4%, nữ là 51,6%, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Vì thalassemia là bệnh di truyền trên nhiễm sắc thể thường nên không liên quan đến giới tính. Đặc điểm về giới tính, lượng huyết sắc tố trung bình khi vào viện của bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nhận xét các của tác giả Phạm Quang Vinh, Phùng Thị Hồng Hạnh năm 2010 và Phan Thị Thùy Hoa năm 2010 [106],[107].

4.2.2. Đặc điểm quá tải sắt tại các tổ chức

Quá tải sắt là nguyên nhân chính gây nhiều biến chứng tại các tổ chức trong cơ thể làm giảm chất lượng cuộc sống cũng như tuổi thọ của bệnh nhân thalassemia [3],[11],[12],[124]. Chính vì thế, việc đánh giá tình trạng quá tải sắt trên bệnh nhân thalassemia đã được các nhà khoa học rất quan tâm, Liên đoàn thalassemia quốc tế đã khuyến cáo thực hiện xét nghiệm đánh giá tình trạng quá tải sắt và theo dõi trong quá trình điều trị thải sắt là tiêu chí quan trọng trong điều trị bệnh thalassemia [10],[11],[12].

Phương pháp đánh giá quá tải sắt ngày càng được cải tiến để có thể đánh giá chính xác và cụ thể từng cơ quan trong cơ thể. Hiện nay, hầu hết các cơ sở điều trị bệnh nhân thalassemia ở Việt Nam sử dụng xét nghiệm ferritin huyết thanh để đánh giá quá tải sắt. Tại các nước tiên tiến trên thế giới, bên cạnh xét nghiệm ferritin huyết thanh, chụp cộng hưởng từ gan để giá lượng sắt trong gan (LIC) và chụp cộng hưởng từ tim để đánh giá lượng sắt trong tim ($T2^*$ tim) đã được áp dụng phổ biến [10],[12],[13],[14],[27].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã sử dụng đồng thời cả 2 phương pháp để đánh giá tình trạng sắt trên bệnh nhân thalassemia, đó là định lượng nồng độ ferritin huyết thanh, xác định nồng độ sắt trong gan bằng chụp cộng hưởng từ gan, xác định mức độ quá tải sắt trong tim bằng chụp cộng hưởng từ tim.

Kết quả ở bảng 3.19 so sánh tỷ lệ các mức độ nồng độ ferritin huyết thanh ở hai nhóm bệnh nhân phụ thuộc truyền máu (TDT) và không phụ thuộc truyền máu (NTDT). Nhìn chung, 96,5% bệnh nhân có quá tải sắt mức độ trung bình và nặng, nhóm bệnh nhân TDT có tỷ lệ quá tải sắt cao hơn. Cụ thể, bệnh nhân nhóm TDT có 81,9% quá tải sắt nặng, 18,1% quá tải sắt trung bình. Bệnh nhân nhóm NTDT có tỷ lệ quá tải sắt mức độ nặng là 49,9% và quá tải sắt mức độ trung bình 45,9%. Sự khác biệt về tỷ lệ các mức độ ferritin ở hai nhóm bệnh nhân có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Nồng độ ferritin huyết thanh trung bình của bệnh nhân nhóm TDT là 4.229,8 ng/ml, nồng độ ferritin huyết thanh trung bình của bệnh nhân nhóm NTDT là 2.909,9 ng/ml, sự khác biệt ở hai nhóm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Tác giả Taher A và cộng sự năm 2009 nghiên cứu tình trạng quá tải sắt ở bệnh nhân β -thalassemia có nồng độ ferritin huyết thanh là 3.356 ng/ml [91]. Tác giả Nguyễn Thị Hồng Hoa nghiên cứu trên 30 bệnh nhân phụ thuộc truyền máu ở độ tuổi trung bình là 10 tuổi, kết quả nồng độ ferritin trung bình là 2.926 ng/ml [89], thấp hơn so với nhóm bệnh nhân TDT trong nghiên cứu của chúng tôi. Điều này có thể là do bệnh nhân của chúng tôi có độ tuổi cao hơn, trung bình là 13 tuổi.

Kết quả ở bảng 3.20 so sánh tỷ lệ các mức độ nồng độ sắt trong gan (LIC) ở hai nhóm bệnh nhân phụ thuộc truyền máu (TDT) và không phụ thuộc truyền máu (NTDT). Trên tổng số 434 bệnh nhân, có 398 bệnh nhân bị quá tải sắt tại gan, chiếm 91,7%. Nhóm bệnh nhân TDT có 88,0% quá tải sắt tại gan nặng, 8,4% quá tải sắt trung bình, 3,6% quá tải sắt mức độ nhẹ và không có trường hợp nào bình thường. Tỷ lệ các mức độ quá tải sắt tại gan mức độ nặng, trung bình, nhẹ và bình thường ở nhóm bệnh nhân NTDT lần lượt là 69,8%, 20,8%, 7,1% và 2,3%. Tỷ lệ các mức độ quá tải sắt giữa nhóm bệnh nhân TDT và NTDT khác nhau có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Nồng độ LIC trung bình ở nhóm TDT là 20,97 mg/g gan khô, cao hơn ở nhóm

NTDT là 18,0 mg/g gan khô, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Kết quả trong nghiên cứu này của chúng tôi cũng tương đồng với nghiên cứu của tác giả Taher A và cộng sự năm 2009 trên 233 bệnh nhân β -thalassemia có nồng độ sắt trong gan (LIC) là 18 mg/g gan khô [91] và tác giả Nguyễn Thị Hồng Hoa trên 30 bệnh nhân thalassemia phụ thuộc truyền máu có trung bình LIC là 21 mg/g gan khô [89].

Tỷ lệ chung bệnh nhân bị quá tải sắt nặng ở gan là 73,3% (bảng 3.20) cao hơn tỷ lệ quá tải sắt nặng tính bằng ferritin là 56% (bảng 3.19). Điều này có thể được giải thích là do cơ chế chuyển hóa sắt trong cơ thể, gan là cơ quan dự trữ sắt chính của cơ thể, nên khi cơ thể có tình trạng dư thừa sắt thì lượng sắt này sẽ nhanh chóng được tích lũy tại gan (95% trong tế bào gan). Ferritin huyết thanh phản ánh lượng ferritin trong đại thực bào [55],[64],[70].

Kết quả ở bảng 3.21 so sánh tỷ lệ các mức độ quá tải sắt trong tim ($T2^*$ tim) trên hai nhóm bệnh nhân phụ thuộc truyền máu (TDT) và không phụ thuộc truyền máu (NTDT). Trong tổng số 434 bệnh nhân, có 65 bệnh nhân bị quá tải sắt tại tim, chiếm 15%. Nhóm phụ thuộc truyền máu có 83 bệnh nhân, nhưng có đến 35 bệnh nhân bị quá tải sắt ở tim chiếm 42,2%, trong đó mức độ nặng có 18 bệnh nhân (21,7%), mức độ trung bình có 7 bệnh nhân (8,4%) và mức độ nhẹ có 10 bệnh nhân (12%). Nhóm không phụ thuộc truyền máu có 351 bệnh nhân, chỉ có 30 bệnh nhân bị quá tải sắt tại tim chiếm 8,5%, trong đó tỷ lệ các mức độ nặng, trung bình và nhẹ lần lượt là 1,4%, 3,4% và 3,7%. Tỷ lệ các mức độ quá tải sắt tại tim giữa hai nhóm bệnh nhân có sự khác nhau có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Chỉ số $T2^*$ tim trung bình ở nhóm TDT là 24,0 ms, thấp hơn nhóm NTDT là 36,4 ms, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Nghiên cứu của tác giả Ali T. Taher năm 2010 cho thấy chỉ số $T2^*$ tim ở nhóm bệnh nhân TDT là 21,5 ms, ở nhóm bệnh nhân NTDT là 47,3 ms [90].

Tỷ lệ bệnh nhân có quá tải sắt tại tim nói chung, cũng như tỷ lệ bệnh nhân bị quá tải sắt mức độ nặng ở tim thấp hơn rất nhiều so với tỷ lệ bệnh nhân có quá tải sắt tại gan và ferritin huyết thanh. Điều này được lý giải là: trong tế bào tim không có chức năng dự trữ sắt, còn tế bào gan có chức năng dự trữ sắt dưới dạng ferritin. Sắt được vận chuyển trong huyết thanh bằng transferrin - Tf (là chủ yếu) và các protein vận chuyển khác như albumin... Sắt được đưa vào trong tế bào thông qua transferrin receptor (TfR), có 2 loại là TfR1 (transferrin receptor 1) và TfR2 (transferrin receptor 2). TfR1 tiếp nhận và vận chuyển sắt vào trong tế bào khi chất vận chuyển sắt là Tf. TfR2 tiếp nhận và vận chuyển sắt vào trong tế bào khi chất vận chuyển sắt không phải là transferrin. Tế bào gan có cả hai loại TfR1 và TfR2. Tế bào tim và tế bào tuyến nội tiết tiếp chỉ có TfR2. Transferrin là chất vận chuyển sắt chủ yếu của cơ thể, chỉ khi lượng sắt trong huyết thanh đã bão hòa hết các vị trí gắn của transferrin, lúc đó ion sắt sẽ gắn không đặc hiệu với các protein khác trong huyết thanh như albumin, để được vận chuyển đến các tế bào tổ chức trong đó có tế bào cơ tim. Bệnh nhân nhóm không phụ thuộc truyền máu (NTDT) có quá trình tích lũy sắt chậm. Trong huyết thanh bệnh nhân, transferrin vẫn là chất vận chuyển chính để đưa sắt đến tích lũy tại tế bào gan. Bệnh nhân nhóm phụ thuộc truyền máu (TDT) có tốc độ tích lũy sắt nhanh do phải truyền máu nhiều. Lượng sắt trong cơ thể tăng lên nhanh chóng gây bão hòa transferrin, ion sắt trong huyết thanh sẽ được các protein khác vận chuyển đến các tổ chức như tim, nội tiết [51],[54].

Từ kết quả ở bảng 3.19, 3.20 và 3.21 cho thấy, mặc dù độ tuổi trung bình của nhóm bệnh nhân phụ thuộc truyền máu (TDT) thấp hơn so với nhóm bệnh nhân không phụ thuộc truyền máu (NTDT), nhưng mức độ quá tải sắt tại các tổ chức ở nhóm bệnh nhân TDT đều cao hơn so với nhóm bệnh nhân NTDT. Nhóm bệnh nhân TDT có tỷ lệ quá tải sắt nặng ở gan (88%), LIC trung bình

là 20,97 mg/g gan khô và chỉ số ferritin huyết thanh trung bình là 4229,8 ng/ml, với 81,9% bệnh nhân có ferritin huyết thanh > 2500 ng/ml. Nhóm bệnh nhân NTDT có tỷ lệ bệnh nhân bị quá tải sắt nặng ở gan là 69,8%, LIC trung bình là 18 mg/g gan khô, tỷ lệ bệnh nhân có chỉ số ferritin huyết thanh > 2500 ng/ml (49,9%), ferritin huyết thanh trung bình là 2909,9 ng/ml. Kết quả nghiên cứu này của chúng tôi cũng phù hợp với nghiên cứu của tác giả Ali T. Taher năm 2010 khi so sánh chỉ số ferritin huyết thanh và LIC giữa 2 nhóm bệnh nhân thalassemia mức độ trung bình và nặng. Tác giả Ali T. Taher chọn hai nhóm bệnh nhân có nồng độ sắt trong gan tương đương nhau với LIC trung bình là 15 mg/g gan khô, nhưng nồng độ ferritin huyết thanh ở nhóm bệnh nhân thalassemia mức độ trung bình (không phụ thuộc truyền máu) là 1.316,8 ng/ml, ở nhóm bệnh nhân thalassemia mức độ nặng (phụ thuộc truyền máu) là 3.723,8 ng/ml, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Đồng thời, giá trị T2* tim ở nhóm bệnh nhân thalassemia mức độ trung bình và nặng lần lượt là 47,3 ms và 21,5 ms, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê [90].

Sự khác nhau về mức độ quá tải sắt ở các tổ chức trong cơ thể giữa hai nhóm bệnh thalassemia phụ thuộc truyền máu và không phụ thuộc truyền máu có thể được lý giải là do sự khác nhau về cơ chế gây quá tải sắt giữa các thể bệnh thalassemia [10],[12],[13],[14],[27].

Cơ chế tích lũy sắt của nhóm bệnh nhân phụ thuộc truyền máu chủ yếu là do truyền máu. Trung bình một bệnh nhân được truyền máu với liều 10 – 20 ml KHC/kg/đợt, 2-5 tuần/đợt, thì sau 1 năm, cơ thể người bệnh sẽ tích lũy thêm khoảng 115 – 230 mg sắt/kg. Đây chính là nguyên nhân làm tình trạng quá tải sắt xuất hiện rất sớm (có thể trước 2 tuổi) ở những bệnh nhân này [11]. Lượng sắt dư thừa ở bệnh nhân sẽ nhanh chóng đi vào các tổ chức như gan, tim, tuyến nội tiết ... [11].

Trong nghiên cứu này của chúng tôi có 83 bệnh nhân phụ thuộc truyền máu với độ tuổi trung bình là 13,8 tuổi, thì có đến 42,2% bệnh nhân có quá tải sắt tại tim, quá tải nặng tại gan là 88%, chỉ số ferritin huyết thanh > 2500 ng/ml là 81,9%. Tác giả Nguyễn Thị Hồng Hoa năm 2015 nghiên cứu trên 30 bệnh nhân phụ thuộc truyền máu có độ tuổi trung bình là 10 tuổi và đã cho thấy tỷ lệ bệnh nhân có quá tải sắt tại tim là 17,3%, quá tải nặng tại gan là 75,9% [89].

Cơ chế tích lũy sắt ở bệnh nhân nhóm không phụ thuộc truyền máu chủ yếu do tăng hấp thu sắt từ đường tiêu hóa trong thời gian dài, bởi vậy thường sau 5 năm bệnh nhân đã bị thừa sắt và sau khoảng 15 năm có thể gây quá tải sắt nặng nếu bệnh nhân không được điều trị thải sắt [58],[59],[66]. Quá trình tích lũy sắt chủ yếu tập trung tại gan vì gan là nơi dự trữ sắt chính - chiếm 70% lượng sắt dự trữ của cơ thể [49],[55]. Tình trạng thiếu oxy tổ chức kéo dài và hiện tượng tăng sinh hồng cầu ở tủy xương ở bệnh nhân thalassemia không phụ thuộc truyền máu đã ức chế quá trình tổng hợp hepcidin ở gan [60],[61],[63],[69]. Hepcidin giảm, dẫn đến tình trạng tế bào đại thực bào tăng giải phóng sắt từ ferritin có trong đại thực bào, khi đó chỉ số ferritin đã không phản ánh được đúng tình trạng quá tải sắt trong cơ thể của người bệnh. Trong nghiên cứu của chúng tôi thực hiện trên 351 bệnh nhân không phụ thuộc truyền máu, độ tuổi trung bình là 28,2 tuổi, chỉ có 8,5% bệnh nhân có quá tải sắt tại tim, quá tải sắt nặng tại gan là 69,8%, tỷ lệ bệnh nhân có ferritin huyết thanh > 2500 ng/ml là 49,9%.

Ferritin huyết thanh là chỉ số thường được sử dụng để đánh giá tình trạng sắt trong cơ thể [10]. Tuy nhiên, với tình trạng quá tải sắt do những bệnh lý khác nhau thì ferritin không thể phản ánh chính xác được lượng sắt trong cơ thể. Biểu đồ 3.2 mô tả mối tương quan giữa chỉ số ferritin huyết thanh và nồng độ sắt trong gan (LIC) ở hai nhóm bệnh nhân phụ thuộc truyền máu và

không phụ thuộc truyền máu. Ở cả hai nhóm bệnh có mối tương quan thuận giữa ferritin huyết thanh và LIC mức độ trung bình ($p < 0,05$), tuy nhiên mức độ tương quan ở nhóm phụ thuộc truyền máu ($r = 0,419$) chặt chẽ hơn so với nhóm không phụ thuộc truyền máu ($r = 0,325$). Kết quả nghiên cứu này của chúng tôi tương tự kết quả nghiên cứu của tác giả Taher AT năm 2013 và Pakbaz Z. năm 2007 khi so sánh mối tương quan giữa giá trị ferritin huyết thanh và LIC ở 2 nhóm bệnh thalassemia phụ thuộc và không phụ thuộc truyền máu [125],[126].

Biểu đồ 3.3 cho thấy có mối tương quan nghịch giữa giá trị ferritin huyết thanh và T2* tim ở mức độ trung bình ($r = -0,365$, $p < 0,05$). Biểu đồ 3.4 cho thấy có mối tương quan nghịch giữa LIC và T2* tim ở mức độ trung bình ($r = -0,313$, $p < 0,05$). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương đồng với nghiên cứu của tác giả Azarkeivan năm 2013 trên nhóm 156 bệnh nhân β -thalassemia mức độ nặng. Tác giả Azarkeivan thấy có mối tương quan thuận giữa ferritin huyết thanh và LIC với $r = 0,535$ và có mối tương quan nghịch giữa ferritin huyết thanh và T2* tim với $r = -0,361$, $p < 0,01$ [128]. Tác giả Pakbaz Z và cộng sự năm 2007 đã so sánh và thấy có mối tương quan thuận giữa nồng độ ferritin huyết thanh và LIC ở nhóm bệnh nhân phụ thuộc truyền máu ($r = 0,87$) chặt chẽ hơn so với mối tương quan này ở nhóm không phụ thuộc truyền máu ($r = 0,32$) [126].

Theo tác giả Tony S năm 2012 và Pakbaz Z năm 2007 thì ferritin huyết thanh không phản ánh được chính xác lượng sắt trong cơ thể ở bệnh nhân thalassemia mức độ trung bình [126],[127]. Kết quả nghiên cứu này của chúng tôi cũng cho thấy, giữa ferritin huyết thanh và LIC có mối tương quan thuận, giữa ferritin huyết thanh và T2* tim có mối tương quan nghịch, giữa LIC và T2* tim có mối tương quan nghịch, nhưng mức độ các mối tương quan trên chỉ ở mức độ trung bình và yếu. Vì vậy, không thể dùng một chỉ

số xét nghiệm ferritin huyết thanh để dự đoán chính xác được lượng sắt trong gan hay trong tim ở bệnh nhân đực và ngược lại. Ở nhóm bệnh nhân thalassemia phụ thuộc truyền máu có mối tương quan giữa ferritin huyết thanh và LIC chặt chẽ hơn so với nhóm bệnh nhân không phụ thuộc truyền máu. Ở bệnh nhân thalassemia không phụ thuộc truyền máu, nếu chỉ xem xét chỉ số ferritin huyết thanh thì sẽ đánh giá tình trạng quá tải sắt trong cơ thể thấp hơn mức độ quá tải sắt thực sự (tại gan và tim) của bệnh nhân. Chính vì lý do này, mỗi bệnh nhân thalassemia đều cần phải được xác định chính xác lượng sắt có tại các tổ chức như gan, tim. Chụp cộng hưởng từ là kỹ thuật được ứng dụng để chẩn đoán chính xác tình trạng sắt tại mô tổ chức [14],[72],[80],[81],[86].

Theo báo cáo của Liên đoàn thalassemia quốc tế năm 2008 là 70% bệnh nhân có ferritin > 2500 ng/ml (quá tải sắt nặng) trong thời gian dài trên một năm sẽ có nguy cơ bị biến chứng tim mạch, trong khi bệnh nhân có ferritin < 1000 ng/ml (quá tải sắt nhẹ) sẽ không có nguy cơ này [10]. Trong nghiên cứu này của chúng tôi cho thấy tỷ lệ bệnh nhân bị quá tải sắt ở tim thấp (15%) (bảng 3.21), trong khi hầu hết bệnh nhân (99,3%) đều có quá tải sắt khi dựa vào chỉ số ferritin huyết thanh và có đến 56% bệnh nhân bị quá tải sắt nặng (đánh giá bằng ferritin > 2500 ng/ml (bảng 3.19). Đồng thời, giữa ferritin và T2* tim có mối tương quan nghịch ở mức độ trung bình thấp (biểu đồ 3.3). Vì lý do này, chúng tôi đánh giá nguy cơ bệnh nhân bị quá tải sắt ở tim dựa vào chỉ số ferritin phân theo hai nhóm là mức độ nặng (ferritin >2500 ng/ml) và không nặng. Kết quả ở bảng 3.22 cho thấy, tỷ lệ bệnh nhân bị quá tải sắt tại tim (T2* tim < 20 ms) là 23,5% ở nhóm bệnh nhân có ferritin huyết thanh > 2500 ng/ml, cao hơn so với tỷ lệ bệnh nhân bị quá tải sắt tại tim ở những bệnh nhân có ferritin huyết thanh ≤ 2500 ng/ml (4,2%), có sự khác biệt về tỷ lệ bệnh nhân bị quá tải sắt tại tim giữa nhóm có ferritin huyết thanh > 2500 ng/ml và ≤ 2500 ng/ml và sự

khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$, OR = 0,143, CI [0,066; 0,307].

Tương tự như đối với ferritin, giữa LIC và T2* tim có mối tương quan nghịch ở mức độ trung bình với $r = - 0,313$ (biểu đồ 3.4). Trong nghiên cứu này, tỷ lệ bệnh nhân bị quá tải sắt tại gan (LIC > 15 mg/g gan khô) là 73,3% (bảng 3.20). Vì vậy, chúng tôi tìm hiểu mối liên quan giữa quá tải sắt tại tim với nồng độ sắt trong gan (LIC) mức độ nặng. Kết quả ở bảng 3.23 cho thấy, 18,5% những bệnh nhân có LIC > 15 mg/g gan khô bệnh nhân bị quá tải sắt tại tim (T2* tim < 20 ms) là, cao hơn so với những bệnh nhân có LIC ≤ 15 mg/g gan khô với tỷ lệ bị quá tải sắt tại tim là 5,2%, có sự khác biệt về tỷ lệ bệnh nhân bị quá tải sắt tại tim giữa nhóm có LIC > 15 và ≤ 15 mg/g gan khô có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$, OR = 0,234, CI [0,102; 0,578]. Như vậy, mặc dù có mối tương quan nghịch giữa nồng độ sắt trong gan (LIC) với lượng sắt trong tim (T2* tim) ở mức độ yếu, nhưng nếu LIC cao > 15 mg/g gan khô thì 18,6% bệnh nhân vẫn có nguy cơ bị quá tải sắt tại tim.

Với những ý nghĩa của xét nghiệm cộng hưởng từ trong việc đánh giá chính xác tình trạng quá tải sắt tại gan và tim, ý nghĩa và tính tiện ích của xét nghiệm định lượng nồng độ ferritin huyết thanh, Liên đoàn thalassemia quốc tế đã hướng dẫn cần phải thực hiện đồng thời các phương pháp này để chẩn đoán và theo dõi tình trạng quá tải sắt của bệnh nhân thalassemia. Bệnh nhân nên được thực hiện xét nghiệm định lượng ferritin huyết thanh định kỳ 1 - 3 tháng/lần, chụp cộng hưởng từ đánh giá sắt tại gan và tim 6 - 12 tháng/lần [11],[12].

4.2.3. Đặc điểm tổn thương tổ chức do quá tải sắt

4.2.3.1. Tổn thương gan

Gan đóng vai trò quan trọng trong sự hằng định nội môi sắt. Khi sắt tích lũy trong tế bào gan quá cao sẽ gây tổn thương tế bào gan, tăng sinh xơ và cuối cùng dẫn đến xơ gan và có thể gây ung thư gan [12]. Gan là cơ quan chuyển hóa cũng

như dự trữ protid của cơ thể. Transaminase có 2 loại là Aspartate Aminotransferase (AST) và Alanin Aminotransferase (ALT) có vai trò quan trọng chuyển hóa acid min. Khi tế bào gan bị tổn thương, các enzym transaminase sẽ tăng lên. Khi gan bị xơ sẽ làm tăng tiêu thụ tiêu cầu tại gan [101].

Sinh thiết gan được coi là tiêu chuẩn vàng để chẩn đoán các giai đoạn xơ hóa và xơ gan. Tuy nhiên, đây là phương pháp xâm lấn nên có những hạn chế khi thực hiện trên bệnh nhân. Năm 2003, tác giả Wai và cộng sự đã tiến hành nghiên cứu đánh giá các chỉ số sinh hóa đơn giản như enzym AST, ALT, số lượng tiêu cầu máu ngoại vi để đánh giá mức độ xơ hóa của gan và xơ gan. Ông đã đưa ra một chỉ số mới gọi là chỉ số APRI (Aspartat Transferase to Platelety Ratio Index). $APRI = [(AST/ULN)/Tiêu\ cầu \times 100]$, đánh giá mức độ xơ hóa gan của bệnh nhân viêm gan C [130]. Sau đó, nhiều tác giả đã dùng chỉ số này để đánh giá xơ gan trong các bệnh gan mạn tính và với các giới hạn chỉ số APRI khác nhau có độ nhạy và độ đặc hiệu khác nhau [131],[132],[133]. Theo tác giả Lin ZH, Xin YN năm 2011, chỉ số APRI có giá trị tiên lượng tình trạng xơ hóa gan và xơ gan trên bệnh nhân. Với chỉ số $APRI > 0,7$, bệnh nhân có khả năng bị gan xơ hóa (độ nhạy 77%, đặc hiệu 72%), với chỉ số $APRI > 1$, bệnh nhân có khả năng bị xơ gan (độ nhạy là 76% và độ đặc hiệu là 72%) [101]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng chỉ số APRI theo tác giả Lin ZH, Xin YN năm 2011.

Đối với bệnh nhân thalassemia, cắt lách là một phương pháp điều trị cho bệnh nhân thalassemia trong những điều kiện nhất định. Sau cắt lách, số lượng tiêu cầu thường tăng cao [12],[129]. Nhiễm virus viêm gan (HBV, HCV) là những yếu tố làm tăng nguy cơ tăng men gan và xơ gan trên bệnh nhân thalassemia [11]. Để tránh bị ảnh hưởng bởi sự thay đổi số lượng tiêu cầu sau cắt lách và tăng men gan do viêm gan virus, trong nghiên cứu này, chúng tôi chỉ phân tích chỉ số APRI ở nhóm bệnh nhân chưa cắt lách và có

kết quả xét nghiệm HBV, HCV âm tính. Vì thế, trong nghiên cứu này của chúng tôi có 181 bệnh nhân thoả mãn điều kiện là chưa cắt lách và HBV, HCV âm tính.

Kết quả ở bảng 3.24 cho thấy, trong 181 bệnh nhân thalassemia có 29 bệnh nhân bị xơ gan chiếm 16%, có 34 bệnh nhân bị xơ hóa gan chiếm 18,8% và 118 bệnh nhân chưa thấy có tổn thương gan chiếm 65,2%. Nồng độ sắt trong gan (LIC) trung bình ở nhóm bệnh nhân bị xơ gan là 18,9 mg/g gan khô, ở nhóm xơ hóa gan là 16,6 mg/g gan khô và ở nhóm bệnh nhân chưa có tổn thương gan là 15,0 mg/g gan khô. Sự khác biệt về nồng độ sắt trong gan giữa các nhóm bệnh nhân có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Tác giả Olynyk JK, St Pierre TG năm 2005 đã nghiên cứu và so sánh nồng độ sắt trong gan với các độ xơ hóa gan bằng sinh thiết gan, từ kết quả nghiên cứu đó đã kết luận rằng nồng độ sắt cao trong gan có thể gây xơ gan [134]. Tác giả C K Li và cộng sự (2001) nghiên cứu trên 100 bệnh nhân thalassemia phụ thuộc truyền máu thấy tỷ lệ gan xơ hóa và xơ gan là 44% trong đó xơ gan là 30% [132].

Gan là nơi tổng hợp tới 50% lượng protein trong cơ thể, đồng thời tổng hợp các yếu tố đông máu như yếu tố II, V, VII, X. Khi gan bị tăng sinh xơ sẽ ảnh hưởng đến chức năng gan, các yếu tố đông máu sẽ bị ảnh hưởng. Thời gian prothrombin (PT%) là một chỉ số thường được sử dụng để đánh giá chức năng gan [11]. Biểu đồ 3.8 cho thấy giữa nồng độ sắt trong gan (LIC) và thời gian prothrombin (PT%) có mối tương quan nghịch ở mức độ yếu ($r = -0,237$, $p < 0,05$).

Như vậy, chỉ số nồng độ sắt trong gan cao rất có ý nghĩa để đánh giá nguy cơ tình trạng xơ hóa và xơ gan ở bệnh nhân thalassemia cũng như ảnh hưởng lên chức năng gan.

4.2.3.2. *Biến chứng tim mạch*

Biến chứng tim mạch là nguyên nhân chính gây tử vong ở bệnh nhân thalassemia. Có nhiều nguyên nhân dẫn đến tổn thương tim như thiếu oxy tổ

chức mạn tính, tăng tần suất tổng máu của tim, tình trạng tăng đông, tổn thương mạch máu tim và quá tải sắt tại tim ... Các biến chứng của tim rất đa dạng như phì đại cơ tim, tăng áp lực động mạch phổi, rối loạn nhịp tim, giảm sức bóp cơ tim và cuối cùng là suy tim [73],[135]. Tình trạng quá tải sắt kéo dài tại tim là một trong nguyên nhân phổ biến làm cơ tim bị tổn thương dẫn đến suy tim, rối loạn nhịp tim [136].

Chẩn đoán suy tim theo tiêu chí Framingham chủ yếu dựa vào các triệu chứng lâm sàng [95],[98]. Bệnh nhân thalassemia đều có đặc điểm thiếu máu mạn tính nên hầu hết bệnh nhân đều mệt khi gắng sức do thiếu máu, gan to là triệu chứng phổ biến ở bệnh nhân thalassemia do tan máu mạn tính. Bệnh nhân thalassemia không được truyền máu thường xuyên dẫn đến hoạt động của tim tăng gây phì đại cơ tim. Chính vì lý do các triệu chứng của bệnh thalassemia trùng với triệu chứng của suy tim, nên trong nghiên cứu này, chúng tôi không đánh giá biến chứng suy tim ở bệnh nhân thalassemia, mà chỉ đánh giá các biến chứng tim do quá tải sắt dựa vào các chỉ số xét nghiệm siêu âm tim.

Kết quả ở bảng 3.21 cho thấy, trong 434 bệnh nhân được nghiên cứu có 65 bệnh nhân bị quá tải sắt tại tim ($T2^*$ tim < 20 ms) chiếm 15%. Kết quả nghiên cứu này của chúng tôi phù hợp với tổng kết của tác giả Suree Lekawanvijit năm 2009 là bệnh nhân thalassemia mức độ nặng có tỷ lệ bị quá tải sắt tại tim từ 11,4% đến 15,1% [136]. Nghiên cứu của tác giả Nguyễn Thị Hồng Hoa năm 2015 cho thấy tỷ lệ bị quá tải sắt tại tim ở bệnh nhân thalassemia mức độ nặng là 17,3% [89].

Giảm sức bóp cơ tim là một yếu tố tiên lượng nặng đối với bệnh nhân thalassemia [10],[11],[73]. Trong nghiên cứu này của chúng tôi, trong số 434 bệnh nhân thalassemia có 20 bệnh nhân bị giảm sức bóp cơ tim chiếm 4,6%. Trong số 65 bệnh nhân bị quá tải sắt tại tim có 8 bệnh nhân bị giảm sức bóp

cơ tim, chiếm tỷ lệ 12,3%. Trong số 369 bệnh nhân không quá tải sắt ở tim, có 12 bệnh nhân bị giảm sức bóp cơ tim, chiếm tỷ lệ 3,3%. Như vậy, tỷ lệ bệnh nhân giảm sức bóp cơ tim ở nhóm có quá tải sắt tại tim cao hơn so với nhóm không bị quá tải sắt tại tim, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,005$; OR = 4,174, CI95% [1,636 ; 10,660]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với nghiên cứu của tác giả Quatre A năm 2014, Quatre A thấy rằng phân suất tống máu (ejection fraction - EF) có giá trị trung bình là 57,6% ở nhóm bệnh nhân có T2* tim ≤ 20 ms, là 62,4% ở nhóm bệnh nhân có T2* tim > 20 ms, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê [137]. Theo tác giả Suree Lekawanvijit năm 2009, giai đoạn đầu quá tải sắt tại tim thường chưa gây biến chứng trên tim mạch ở người bệnh. Nhưng khi đã xuất hiện triệu chứng suy tim thì có 11,6% bệnh nhân bị tử vong đột ngột. Theo báo cáo của Hiệp hội Tim, Mỹ tháng 9/2009 cho biết với T2* tim < 10 ms (quá tải sắt tại tim nặng), bệnh nhân có nguy cơ bị suy tim trong vòng 1 năm (độ nhạy 98% và độ đặc hiệu 86%) [135],[136]. Những nghiên cứu trên cho thấy, tình trạng quá tải sắt tại tim đã ảnh hưởng trực tiếp, dẫn đến giảm sức bóp của cơ tim, và đây chính là nguyên nhân có thể dẫn đến tử vong ở bệnh nhân thalassemia. Tác giả Suree Lekawanvijit cho rằng cộng hưởng từ đánh giá sắt tại tim (T2* tim) có thể đánh giá chính xác lượng sắt trong tim và phát hiện sớm rối loạn chức năng tâm thất của bệnh nhân [136].

Rối loạn nhịp tim cũng là một biến chứng tim mạch gây ra do quá tải sắt tại tim. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ở bảng 3.26 cho thấy chỉ có 3,2% bệnh nhân có rối loạn nhịp tim, không có mối liên quan giữa biến chứng rối loạn nhịp tim với mức độ quá tải sắt ở tim ($p > 0,5$). Theo tác giả P Kirk nghiên cứu trên 652 bệnh nhân thalassemia mức độ nặng (phụ thuộc truyền máu), tỷ lệ bệnh nhân có rối loạn nhịp tim là 15%, trong đó 83% bệnh nhân có T2* tim < 20 ms [72]. Tỷ lệ bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi bị

rối loạn nhịp tim thấp, có thể là do phương pháp chẩn đoán. Chúng tôi chỉ phát hiện rối loạn nhịp tim qua xét nghiệm điện tâm đồ tại một thời điểm, trong khi tác giả P Kirk thực hiện đo điện tâm đồ 24 giờ. Vì vậy, trong thời gian tới, cần tiếp tục phối hợp với các bác sỹ chuyên khoa tim mạch để nghiên cứu sâu hơn về biến chứng này trên bệnh nhân thalassemia.

Theo P Kirk, chỉ số T2* tim có giá trị trong tiên lượng biến chứng rối loạn nhịp tim, nhưng có ý nghĩa thấp hơn trong tiên lượng biến chứng suy tim. Phần lớn các rối loạn nhịp tim từ tâm nhĩ và không phụ thuộc vào chức năng tâm thất. Bên cạnh đó rối loạn nhịp tim còn bị ảnh hưởng bởi hoạt động của tâm nhĩ và tình trạng dẫn tâm nhĩ [72].

Trong nghiên cứu này cho thấy tỷ lệ bệnh nhân bị giảm sức bóp cơ tim thấp (4,6% - bảng 3.25), và tỷ lệ bệnh nhân bị quá tải sắt tại gan rất cao (98,8%) và quá tải sắt nặng ở gan là 73,3% - bảng 3.20. Vì vậy chúng tôi tìm hiểu mối liên quan giữa giảm sức bóp cơ tim với nồng độ sắt trong gan theo 2 nhóm quá tải sắt nặng và không nặng. Kết quả ở bảng 3.27 cho thấy tỷ lệ giảm sức bóp cơ tim ở bệnh nhân thalassemia có quá tải sắt nặng tại gan (LIC > 15 mg/g gan khô) là 4,3%, ở nhóm bệnh nhân không có quá tải sắt nặng ở gan (LIC ≤ 15 mg/g gan khô) là 4,7%, sự khác biệt về tỷ lệ bệnh nhân bị sức bóp cơ tim ở hai nhóm bệnh nhân này không thấy có ý nghĩa thống kê với $p > 0,5$.

Tương tự như vậy, chúng tôi cũng đánh giá nguy cơ bệnh nhân bị quá tải sắt ở tim dựa vào chỉ số ferritin chia theo hai nhóm là mức độ nặng (ferritin >2500 ng/ml) và không nặng. Kết quả ở bảng 3.28 cho thấy tỷ lệ giảm sức bóp cơ tim ở bệnh nhân có ferritin huyết thanh > 2500 ng/ml là 5,3%, ở nhóm bệnh nhân có ferritin huyết thanh ≤ 2500 ng/ml là 3,7%, sự khác biệt về tỷ lệ bệnh nhân bị giảm sức bóp cơ tim ở hai nhóm bệnh nhân này không thấy có ý nghĩa thống kê với $p > 0,5$. Kết quả nghiên cứu này của chúng tôi phù hợp với báo cáo tổng kết của tác giả Suree Lekawanvijit là nồng độ ferritin huyết

thanh và LIC không có mối tương quan với các biến chứng tim mạch trên bệnh nhân thalassemia [136]. Tác giả P Kirk kết luận T2* tim có ý nghĩa tiên lượng biến chứng suy tim và rối loạn nhịp tim ở bệnh nhân thalassemia. Ferritin huyết thanh > 2500 ng/ml chỉ có giá trị tiên lượng biến chứng suy tim nhưng mức độ yếu. LIC không có giá trị trong tiên lượng biến chứng suy tim và rối loạn nhịp tim ở bệnh nhân thalassemia [72]

Như vậy, từ các kết quả nghiên cứu trên cho thấy chỉ có xét nghiệm cộng hưởng từ tại tim (T2* tim) mới đánh giá được tình trạng quá tải sắt ở tim, từ đó mới tiên lượng được nguy cơ giảm sức bóp cơ tim ở bệnh nhân thalassemia.

4.2.3.3. *Biến chứng nội tiết*

Biến chứng nội tiết là một trong những biến chứng thường gặp nhất ở bệnh nhân thalassemia với biểu hiện rất đa dạng. Nguyên nhân chủ yếu là do thiếu máu mạn tính và quá tải sắt. Các biến chứng thường gặp nhất là: suy tuyến yên, tiền đái tháo và đái tháo đường, suy sinh dục, suy giáp trạng và suy tuyến cận giáp [10],[138],[139],[140].

Trong nghiên cứu này, khi nghiên cứu về biến chứng sinh dục, chúng tôi không nghiên cứu trên bệnh nhân nữ là do nồng độ hormone nội tiết ở nữ thay đổi theo chu kỳ kinh nguyệt và bệnh nhân thường không nhớ chính xác ngày có kinh nguyệt. Vì thế, chúng tôi chỉ đánh giá hormone sinh dục ở bệnh nhân nam giới trên 15 tuổi. Trong nghiên cứu này có 151 bệnh nhân nam trên 15 tuổi.

Kết quả ở biểu đồ 3.6 cho thấy, trong các tuyến nội tiết bị ảnh hưởng thì tỷ lệ bệnh nhân bị tổn thương tuyến sinh dục là cao nhất, tỷ lệ bệnh nhân bị giảm testosterone, FSH và LH lần lượt là 43,7%, 17% và 13,9%. Qua kết quả này cho thấy, bệnh nhân bị suy sinh dục có thể là do tổn thương tại tuyến yên làm ảnh hưởng đến hormone hướng sinh dục (LH, FSH), và có thể đồng thời

tổn thương trực tiếp tại tuyến sinh tinh gây giảm tổng hợp testosterone. Tuy nội tiết cũng là tuyến bị ảnh hưởng nhiều với tỷ lệ 21,7% bệnh nhân có giảm dung nạp đường (HbA1C \geq 5,7%). Có 5,3% bệnh nhân bị giảm hormone tuyến giáp (FT4), có 1,4% bệnh nhân bị giảm hormone hướng giáp trạng (TSH). Như vậy, tuyến giáp cũng bị ảnh hưởng theo cơ chế tổn thương tại tuyến và tại tuyến yên. Có 1,5% bệnh nhân bị giảm hormone tuyến cận giáp (PTH). Kết quả trong nghiên cứu này của chúng tôi cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của một số tác giả khác. Nghiên cứu của tác giả Toumba M cho thấy tỷ lệ bị thiếu năng sinh dục ở bệnh nhân thalassemia mức độ nặng của là 32,5% [141]. Tác giả Bakir ML và cộng sự năm 2013 nghiên cứu trên bệnh nhân β -thalassemia mức độ nặng đã cho thấy tỷ lệ bệnh nhân bị đái tháo đường phụ thuộc insulin là 6% [142]. Tỷ lệ bệnh nhân thalassemia bị suy giáp trong nghiên cứu của Eleftheriou A là 3,2%, Toumba M là 5,9% [12].

Kết quả ở biểu đồ 3.7, cho thấy tỷ lệ bệnh nhân bị giảm các hormon tăng theo mức độ quá tải sắt tại tim. Khi không có quá tải sắt tại tim, tỷ lệ bệnh nhân bị giảm hormone testosterone, FSH, LH, PTH và HbA1 \geq 5,7% lần lượt là 38,5%, 10,0%, 10,0%, 0,6% và 17,7%. Với mức độ quá tải sắt tại tim nặng, các tỷ lệ bệnh nhân bị giảm các loại hormone testosterone, FSH, LH, PTH và HbA1 \geq 5,7% lần lượt là 77,8%, 62,5%, 50%, 9,5% và 65,2%. Kết quả nghiên cứu này chứng tỏ rằng, quá tải sắt là nguyên nhân quan trọng góp phần làm tăng tỷ lệ bệnh nhân bị tổn thương các tuyến nội tiết.

Để đánh giá chính xác tình trạng quá tải sắt tại tuyến nội tiết chỉ có phương pháp duy nhất là chụp cộng hưởng từ [143]. Tuy nhiên, hiện nay chụp cộng hưởng từ đánh giá quá tải sắt tại các tuyến nội tiết vẫn chưa được áp dụng rộng rãi vì kích thước các tuyến nội tiết rất nhỏ, nên khó thực hiện kỹ thuật. Để tìm hiểu tình trạng quá tải sắt tại các tuyến nội tiết, chúng tôi gián tiếp so sánh

tỷ lệ bệnh nhân bị giảm hormone với các chỉ số đánh giá quá tải sắt là T2* tim, LIC và ferritin huyết thanh.

Kết quả bảng 3.29 cho thấy mối liên quan giữa các mức độ quá tải sắt tại tim (T2* tim), nồng độ sắt trong gan mức độ nặng (LIC) và nồng độ ferritin huyết thanh mức độ nặng với tỷ lệ bệnh nhân bị giảm hormon sinh dục. Nhóm bệnh nhân có quá tải sắt tại tim, tỷ lệ bệnh nhân giảm hormon LH, FSH và testosterone thứ tự là 38,1%, 57,1% và 76,2%, ở nhóm bệnh nhân không quá tải sắt ở tim, các tỷ lệ này lần lượt là 10%, 10% và 38,5%. Nhóm bệnh nhân có quá tải sắt tại tim có tỷ lệ bị giảm cả 3 hormon sinh dục đều cao hơn so với nhóm bệnh nhân không quá tải sắt tại tim, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

Nhóm bệnh nhân có quá tải sắt nặng tại gan (LIC > 15mg/g) và ferritin huyết thanh (> 2500 ng/ml), có tỷ lệ giảm cả hormon LH và FSH cao hơn so với nhóm không quá tải sắt nặng tại gan và ferritin huyết thanh, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Tuy nhiên, tỷ lệ bệnh nhân bị giảm testosterone ở nhóm có quá tải sắt nặng tại gan và ferritin huyết thanh > 2500 ng/ml cao hơn so với nhóm không quá tải sắt nặng nhưng không thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Chúng tôi đã thực hiện xét nghiệm hormone tuyến cận giáp (PTH) cho 404 bệnh nhân thalassemia (có 30 bệnh nhân không làm được do tại thời điểm đó, khoa Hóa sinh - Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương không thực hiện được xét nghiệm PTH), tỷ lệ chung bị giảm PTH là 1,5% (bảng 3.30). Có sự khác nhau về tỷ lệ giữa các nhóm bệnh nhân theo mức độ quá tải sắt. Tỷ lệ bệnh nhân bị giảm PTH ở nhóm bệnh nhân quá tải sắt tại tim là 6,8%, ở nhóm bệnh nhân không có quá tải sắt ở tim là 0,6%, tỷ lệ bệnh nhân bị giảm PTH ở hai nhóm bệnh nhân này có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Tỷ lệ bệnh nhân bị giảm PTH ở nhóm bệnh nhân có quá tải sắt nặng tại gan và

ferritin huyết thanh là 1,7% và 1,8% cao hơn so với nhóm không quá tải sắt nặng là 0,9% và 1,1%, nhưng chưa thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Tác giả Nicholas G. Angelopoulos nghiên cứu trên 243 bệnh nhân β -thalassemia phụ thuộc truyền máu, tỷ lệ giảm hormon cận giáp là 13,5%. Tác giả kết luận rằng ferritin huyết thanh không dự đoán được nguy cơ suy tuyến cận giáp [144].

Chúng tôi đã thực hiện xét nghiệm hormone hướng giáp trạng (TSH) và hormon tuyến giáp (FT4) cho 431 bệnh nhân thalassemia, tỷ lệ chung bị giảm TSH là 1,2% , giảm FT4 là 5,3% (bảng 3.29). Kết quả cho thấy không có sự khác biệt về tỷ lệ giảm hormon TSH, FT4 giữa các nhóm bệnh nhân theo mức độ quá tải sắt tại tim, quá tải sắt nặng ở gan và ferritin huyết thanh. Tác giả Filosa A nghiên cứu trên 50 bệnh nhân thalassemia mức độ nặng, tỷ lệ bệnh nhân bị giảm chức năng tuyến giáp là 8,4%, đồng thời tác giả không thấy mối tương quan giữa giảm chức năng tuyến giáp với nồng độ ferritin huyết thanh [145].

Bảng 3.30 mô tả mối liên quan giữa tỷ lệ bệnh nhân bị tiền đái tháo đường ($HbA1C \geq 5,7\%$) với các mức độ quá tải sắt tại tim ($T2^*$ tim), nồng độ sắt trong gan (LIC) và nồng độ ferritin huyết thanh. Tỷ lệ bệnh nhân có $HbA1C \geq 5,7\%$ ở nhóm bệnh nhân quá tải sắt tại tim là 43,1%, ở nhóm bệnh nhân không quá tải sắt ở tim là 17,9%, có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Tỷ lệ bệnh nhân có $HbA1C \geq 5,7\%$ ở nhóm bệnh nhân có quá tải sắt nặng tại gan và ferritin huyết thanh là 22,3% và 25,5% cao hơn so với nhóm bệnh nhân không quá tải sắt nặng là 20,0% và 16,8%, nhưng sự khác biệt giữa các tỷ lệ này không thấy có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Theo khuyến cáo của Liên đoàn thalassemia quốc tế, hiện tượng tế bào beta bị phá hủy là do hậu quả quá tải sắt tại tế bào beta tuyến tụy. Để phát hiện sớm biến chứng tuyến tụy thì cần chụp MRI tuyến tụy hoặc xét nghiệm HbA1C [11]. Do việc

thực hiện chụp cộng hưởng từ tuyến tụy để đánh giá quá tải sắt không đơn giản, nên các nhà khoa học đã đánh giá gián tiếp qua tình trạng quá tải sắt ở tim. Kết quả nghiên cứu của tác giả Maria (năm 2011) trên 957 bệnh nhân thalassemia thể nặng cho thấy tỷ lệ bệnh nhân bị biến chứng chứng tim mạch trong nhóm bệnh nhân có đái tháo đường cao hơn so với nhóm bệnh nhân không bị đái tháo đường [146].

Từ các kết quả nghiên cứu ở biểu đồ 3.7, bảng 3.29, 3.30 và 3.31 có thể kết luận rằng quá tải sắt là nguyên nhân làm tăng tỷ lệ tổn thương các tuyến nội tiết. Chỉ số đánh giá quá tải sắt tại tim (T2* tim) có ý nghĩa hơn so với chỉ số LIC và ferritin huyết thanh trong đánh giá nguy cơ biến chứng các tuyến nội tiết ở bệnh nhân thalassemia.

4.2.4. Sự thay đổi tình trạng quá tải sắt sau 1 năm điều trị thải sắt thường xuyên

Quá tải sắt gây ra rất nhiều biến chứng cho người bệnh thalassemia, do vậy việc điều trị thải sắt và theo dõi hiệu quả điều trị cho bệnh nhân là rất cần thiết và quan trọng [10],[11],[12].

Chỉ số đánh giá hiệu quả điều trị thải sắt là nồng độ ferritin huyết thanh, nồng độ sắt trong gan (LIC) và nồng độ sắt trong tim (T2* tim). Do chỉ số ferritin huyết thanh có thể bị ảnh hưởng bởi các bệnh lý khác kèm theo trên bệnh nhân (như viêm nhiễm, bệnh ác tính). Kỹ thuật chụp cộng hưởng từ đánh giá sắt tại tim chỉ có thể thực hiện bởi các bác sỹ có trình độ tay nghề cao. Tỷ lệ bệnh nhân có quá tải sắt tại tim thấp (đặc biệt ở nhóm bệnh nhân không phụ thuộc tuyền máu). Vì những lý do này mà chỉ số sắt trong tim cũng không được sử dụng thường xuyên. Nồng độ sắt trong gan (LIC) là chỉ số được nhiều tác giả nghiên cứu sử dụng trong việc đánh giá hiệu quả điều trị thải sắt [12],[91],[147].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi phân loại, đánh giá hiệu quả điều trị thải sắt dựa theo tiêu chuẩn của nghiên cứu ESCALATOR [91]. Điều trị thải sắt hiệu quả là khi LIC giảm ≥ 3 mg/ g gan khô đối với các trường hợp có chỉ số LIC trước điều trị > 10 mg/g gan khô, hoặc LIC duy trì trong khoảng 1-7 mg/g gan khô nếu trước điều trị LIC có giá trị từ 2 - 10 mg/g gan khô [91].

Dựa theo tiêu chí của nghiên cứu ESCALATOR, trong nghiên cứu này của chúng tôi có đánh giá tình trạng quá tải trước và sau theo dõi 1 năm trên 185 bệnh nhân. Nguyên tắc điều trị thải sắt là bệnh nhân được điều trị hàng ngày hoặc định kỳ hàng tuần, kéo dài liên tục cho đến khi lượng sắt trong cơ thể về giới hạn bình thường. Do hoàn cảnh của bệnh nhân đa phần sống xa bệnh viện, không có điều kiện đi bệnh viện thường xuyên. Nên trong nghiên cứu này của chúng tôi chỉ có 54 bệnh nhân đã tuân thủ điều trị thải sắt định kỳ. Thực trạng tỷ lệ bệnh nhân thalassemia được điều trị thải sắt định kỳ thấp không chỉ có Việt Nam mà các còn xảy ra ở các quốc gia khác. Kết quả nghiên cứu của tác giả Vip Viprakasit năm 2009 về sự tuân thủ điều trị thải sắt của bệnh nhân thalassemia tại Thái Lan, tỷ lệ bệnh nhân được điều trị thường xuyên là 14% [150].

Bảng 3.33 mô tả đặc điểm chung của 54 bệnh nhân được điều trị thải sắt, độ tuổi trung bình là 23,8, có nồng độ sắt trong gan (LIC) là 20,6 mg/g gan khô, nồng độ ferritin huyết thanh là 3562,2 ng/ml. Thể tích máu truyền trung bình là 167,6 ml /kg /năm. Theo khuyến cáo của Liên đoàn Thalassemia quốc tế, lượng máu cần truyền trung bình là 195 ml /kg /năm [10]. Có 13 bệnh nhân được điều trị thải sắt bằng deferoxamin với liều trung bình 15,2 mg/kg/ngày, 8 bệnh nhân điều trị bằng deferipron với liều trung bình là 38,6 mg/kg/ngày và 41 bệnh nhân điều trị bằng deferasirox với liều trung bình là 18,5 mg/kg/ngày.

Kết quả ở biểu đồ 3.8 cho thấy, trong 54 bệnh nhân được điều trị thải sắt thường xuyên, có 48,1% bệnh nhân có hiệu quả điều trị thải sắt tốt (LIC giảm > 3 mg/gan khô), 20,4% bệnh nhân LIC không thay đổi hoặc giảm nhẹ (LIC giảm < 3mg/g gan khô), 31,5% bệnh nhân có LIC tăng thêm sau điều trị 1 năm. Kết quả nghiên cứu của tác giả Ali Taher trên 233 bệnh nhân β -thalassemia điều trị thải sắt bằng deferasirox trong 1 năm với liều trung bình 23,1 (12–29) mg/kg/ngày, thể máu đã truyền 95 ml/kg/năm, có 57% bệnh nhân có kết quả tốt [91]. Tác giả Cohen (2008) nghiên cứu trên 541 bệnh nhân β -thalassemia mức độ nặng, kết quả cho thấy với liều thuốc deferasirox 20 mg/kg/ngày, lượng KHC đã nhận trung bình 134,4 ml/kg/năm, tỷ lệ đạt hiệu quả giảm nồng độ sắt trong gan là 46% [152]. Kết quả nghiên cứu GPO-L-ONE ở Thái Lan năm 2013 trên 73 bệnh nhân thalassemia phụ thuộc truyền máu được thải sắt bằng deferipron, chỉ có 45,2% bệnh nhân có hiệu quả điều trị thải sắt tốt [153].

Kết quả ở bảng 3.34 và biểu đồ 3.9 cho thấy, sau 1 năm điều trị, ở nhóm 54 bệnh nhân được điều trị thải sắt thường xuyên. Sự thay đổi nồng độ sắt trong gan (LIC) giảm từ 20,6 mg/g gan khô xuống còn 18,2 mg/g gan khô, sự thay đổi có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$. Tỷ lệ bệnh nhân bị quá tải sắt nặng ở gan giảm từ 85,2% xuống 74,1%, có 3,7% bệnh nhân quá tải sắt mức trung bình xuống mức độ nhẹ, chưa có trường hợp nào về bình thường. Tác giả Nguyễn Thị Hồng Hoa nghiên cứu trên 29 bệnh nhân thalassemia phụ thuộc truyền máu điều trị thải sắt bằng thuốc deferasirox trong 1 năm, kết quả cho thấy LIC giảm từ 21,5 mg/g gan khô xuống 11,3 mg/g gan khô [89]. Nghiên cứu THETIS của tác giả Taher và cộng sự ở 134 bệnh nhân thalassemia không phụ thuộc truyền máu, điều trị bằng desferasirox liều trung bình là 14,7 mg/kg/ngày và 83,6% bệnh nhân không phải truyền máu, nồng độ LIC giảm từ 15,1 mg/g gan khô xuống 8,5 mg/g gan khô; tỷ lệ LIC

>15 mg/g gan khô trước điều trị là 35,7%, sau 1 năm điều trị, tỷ lệ này giảm xuống còn 12,7% [148].

Sự thay đổi sắt qua nồng độ ferritin huyết thanh ở bảng 3.34 và biểu đồ 3.9 cho thấy, ferritin huyết thanh giảm từ 3562,2 ng/ml xuống 2936,9 ng/ml, nồng độ ferritin huyết thanh giảm trung bình là 625,5 ng/ml, sự thay đổi có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Tỷ lệ quá tải sắt nặng giảm từ 74,1% xuống 55,6%. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự như của tác giả Nguyễn Thị Hồng Hoa, ferritin huyết thanh giảm từ 2926 ng/ml xuống 2441 ng/ml [89]. Nghiên cứu EPIC năm 2011 của một nhóm tác giả trên 1115 bệnh nhân thalassemia, điều trị thải sắt bằng deferasirox với các liều lượng thuốc khác nhau trong thời gian 1 năm, nồng độ ferritin huyết thanh trung bình giảm được từ 149 đến 1165 ng/ml [151]. Nghiên cứu ESCALATOR của Ali Taher và cộng sự cũng thấy tỷ lệ bệnh nhân có ferritin huyết thanh > 2500 ng/ml giảm từ 64,2% xuống 59,5% sau 1 năm [91].

Nồng độ sắt trong tim cũng giảm có ý nghĩa, với T2* tim tăng từ 29,8 ms lên 31,5 ms, sự thay đổi giữa trước và sau điều trị có khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$ và tỷ lệ bệnh nhân bị quá tải sắt nặng ở tim đã giảm từ 16,7% xuống 9,3%. Nghiên cứu của tác giả Nguyễn Thị Hồng Hoa thấy T2* tim có thay đổi nhẹ (tăng 0,7 – 1,2 ms) nhưng không có ý nghĩa thống kê [89]. Nghiên cứu của tác giả Dudley J. Pennell và cộng sự trên 197 bệnh nhân thalassemia có quá tải sắt tại tim, tỷ lệ T2* tim tăng thêm 12% ở nhóm bệnh nhân điều trị thải sắt bằng deferasirox với liều trung bình là 36,7 mg/kg/ngày (19,7 - 43,3 mg/kg/ngày); T2* tim tăng thêm 7% ở nhóm bệnh nhân điều trị thải sắt bằng deferosamin liều trung bình 41,5 (13,2 - 60,2) mg/kg /ngày [92]. Trong nghiên cứu này của chúng tôi, do chỉ có 54 bệnh nhân thuộc cả hai nhóm bệnh phụ thuộc truyền máu và không phụ thuộc truyền máu, được thải sắt bằng 3 loại thuốc khác nhau, vì thế chúng tôi không thể chia bệnh nhân

theo các nhóm thuốc và theo từng mức bệnh được. Chính vì vậy kết quả của chúng tôi không hoàn toàn giống như các nghiên cứu khác.

Tìm hiểu sự thay đổi của LIC với ferritin huyết thanh ở nghiên cứu này, chúng tôi chưa thấy có mối tương quan thuận giữa sự thay đổi nồng độ ferritin huyết thanh và chỉ số LIC ($r = 0,19$, $p > 0,05$) (biểu đồ 3.10). Điều này có thể do cỡ mẫu của nghiên cứu này còn nhỏ. Kết quả ở bảng 3.35 cho thấy, sau 1 năm điều trị, 70,4% bệnh nhân giảm LIC, 81,5% bệnh nhân giảm ferritin huyết thanh, chỉ có 57,4% bệnh nhân có giảm đồng thời cả LIC và ferritin huyết thanh; có 5,6% bệnh nhân có tăng đồng thời cả LIC và ferritin huyết thanh. Như vậy, chỉ có 63% bệnh nhân có sự thay đổi ferritin và LIC thuận chiều (cùng tăng hoặc cùng giảm). Nghiên cứu của Mammen Puliyeel cho thấy rằng sự thay đổi ferritin huyết thanh và LIC ở bệnh nhân thalassemia có mối tương quan ($p < 0,001$), nhưng có sự khác nhau giữa từng cá thể, có 74% bệnh nhân thalassemia có sự thay đổi LIC và ferritin huyết thanh cùng tăng hoặc cùng giảm, 26% bệnh nhân có sự thay đổi của LIC và ferritin huyết thanh ngược nhau [149].

Sự thay đổi của sắt trong gan và trong tim được trình bày ở bảng 3.36. Trong 54 bệnh nhân được điều trị thải sắt thường xuyên, có 14 bệnh nhân có quá tải sắt tại tim ($T2^*$ tim < 20 ms). Sau điều trị 1 năm, có 11 bệnh nhân (78,6%) có giảm sắt ở tim ($T2^*$ tim tăng), có 78,6% bệnh nhân có giảm sắt ở gan. Có 8 bệnh nhân (57,1%) giảm đồng thời cả sắt ở gan và tim. Có 70,4% bệnh nhân giảm sắt ở gan (LIC giảm), có 57,4% bệnh nhân giảm sắt ở tim ($T2^*$ tim tăng), chỉ có 38,9% bệnh nhân giảm cả sắt ở gan và tim. Nghiên cứu của tác giả Dudley J. Pennell và cộng sự trên 197 bệnh nhân thalassemia có quá tải sắt tại tim, tỷ lệ $T2^*$ tim tăng thêm khác nhau ở các nhóm bệnh nhân có nồng độ sắt trong gan khác nhau. Nhóm bệnh nhân có LIC < 7 mg sắt/g

gan khô, T2* tim tăng thêm 30%; nhóm bệnh nhân có LIC > 15 mg sắt/g gan khô, T2* tim chỉ tăng thêm 9% [92].

Như vậy, qua kết quả ở biểu đồ 3.8, 3.9, 3.10 và bảng 3.34, 3.35, 3.36 có thể thấy rằng, sau điều trị thải sắt thường xuyên 1 năm, tình trạng quá tải sắt ở bệnh nhân đã giảm được ở cả tim, gan và ferritin huyết thanh. Với các kết quả của nhiều nghiên cứu (EPIC, GPO-L-ONE, tác giả Cohen) đã cho thấy rằng sự thay đổi các chỉ số ferritin và LIC phụ thuộc vào rất nhiều yếu tố như: liều lượng thuốc, lượng máu bệnh nhân đã truyền trong gian theo dõi, mức độ quá tải sắt của bệnh nhân tại thời điểm bắt đầu được theo dõi [151],[152]. Vì vậy, để có thể đánh giá sâu hơn về hiệu quả điều trị thải sắt, cần tiếp tục thực hiện một nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn trong thời gian dài hơn.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi phân tích sự thay đổi các chỉ số phản ánh chức năng của các tổ chức trong cơ thể người bệnh, bị ảnh hưởng do quá tải sắt. Kết quả ở biểu đồ 3.11 cho thấy, tỷ lệ bệnh nhân bị giảm sức bóp cơ tim không thay đổi (3,7%). Tỷ lệ bệnh nhân bị xơ gan/ gan xơ hóa giảm từ 44,4% xuống 38,9%; tỷ lệ bệnh nhân bị tiền đái tháo đường ($HbA1C \geq 5,7\%$) giảm từ 42,6% xuống 40,9% sau 1 năm điều trị. Nghiên cứu của tác giả Pennell J (2012) trên 71 bệnh nhân thalassemia có quá tải sắt tại tim điều trị bằng deferasirox trong 3 năm, kết quả cho thấy nồng độ sắt trong tim giảm, nhưng phân suất tổng máu không thay đổi trong 18 tháng đầu điều trị [154]. Nghiên cứu của tác giả Wu SF (2006) trên 15 bệnh nhân thalassemia mức độ nặng, được điều trị bằng deferipron trong thời gian trung bình 3,3 năm, bệnh nhân được xét nghiệm sinh thiết gan trước và sau thời gian điều trị. Kết quả cho thấy, tất cả bệnh nhân đã giảm mức độ xơ gan và nồng độ sắt trong gan [155]. Theo nghiên cứu của tác giả Farmaki K (2011) trên 16 bệnh nhân thalassemia mức độ nặng, được điều trị thải sắt bằng phối hợp hai thuốc

desferrioxamine và deferiprone trong thời gian 2 năm cho thấy: có 2/8 bệnh nhân (25%) bệnh nhân bị rối loạn dung nạp glucose trở về bình thường [156].

Qua các kết quả nghiên cứu trên, đã chứng minh là điều trị thải sắt thường xuyên đã góp phần giảm tình trạng quá tải sắt tại các tổ chức trong cơ thể, từ đó đã làm giảm các biến chứng do quá tải sắt gây ra như xơ gan/ gan xơ hóa, tiền đái tháo đường, giảm sức bóp cơ tim. Tuy nhiên, sự cải thiện chức năng của các tổ chức thường chậm (đặc biệt là tại tim). Do vậy, cần phải kiên trì điều trị thải sắt trong thời gian dài, đồng thời cần định kỳ đánh giá tình trạng quá tải sắt tại gan, tim bằng MRI để theo dõi sớm hơn hiệu quả điều trị thải sắt.

4.2.5. Sự thay đổi tình trạng quá tải sắt sau 1 năm không được điều trị thải sắt thường xuyên

Bên cạnh nhóm bệnh nhân được điều trị thải sắt thường xuyên, chúng tôi cũng tìm hiểu tình trạng quá tải sắt ở 131 bệnh nhân đã không được điều trị thải sắt thường xuyên (vì hoàn cảnh cá nhân người bệnh không thể đi bệnh viện định kỳ).

Bảng 3.37 và biểu đồ 3.12 mô tả sự thay đổi của các chỉ số đánh giá quá tải sắt ở nhóm 131 bệnh nhân không được điều trị thải sắt thường xuyên trong 1 năm. Nồng độ sắt trong gan tăng từ 18,6 lên 19,3 mg/g gan khô, tỷ lệ bệnh nhân bị quá tải sắt nặng ở gan tăng từ 74,8% lên 77,9%, sự thay đổi có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$; Nồng độ ferritin huyết thanh tăng từ 2929,8 ng/ml lên 3117,8 ng/ml, sự thay đổi có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$, tỷ lệ bệnh nhân bị quá tải sắt nặng tăng từ 48,9% lên 52,7%. T2* tim giảm từ 34,1 ms xuống 33,1 ms, sự thay đổi giữa trước và sau điều trị có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$, tỷ lệ bệnh nhân bị quá tải sắt ở tim tăng từ 13% lên 15,3% (bảng 3.37). Như vậy, nếu bệnh nhân thalassemia không được điều trị thải sắt

thường xuyên, sau 1 năm, tình trạng quá tải sắt tăng lên ở cả tim, gan và ferritin huyết thanh.

Về các biến chứng tại các tổ chức gây ra quá tải sắt được mô tả ở biểu đồ 3.13. Tỷ lệ bệnh nhân bị giảm sức bóp cơ tim không thay đổi (3,1%). Tỷ lệ bệnh nhân bị xơ gan /gan xơ hóa tăng từ 30,9 lên 32,7%; Tỷ lệ bệnh nhân bị tiền đái tháo đường ($HbA1C \geq 5,7\%$) tăng từ 9,6% lên 11,2%.

Từ các kết quả nghiên cứu ở trên, có thể thấy rằng ở bệnh nhân thalassemia, tình trạng quá tải sắt tại các tổ chức tăng dần hàng năm. Tuy nhiên, nếu bệnh nhân được điều trị thải sắt thường xuyên sẽ góp phần làm giảm đi tình trạng quá tải sắt. Tình trạng quá tải sắt có liên quan mật thiết đến chức năng hoạt động của các tổ chức. Nếu bệnh nhân không được điều trị thải sắt, mức độ quá tải sắt tăng sẽ làm tăng biến chứng tại các tổ chức và ngược lại, nếu bệnh nhân được điều trị thải sắt thường xuyên thì mức độ quá tải sắt giảm sẽ góp phần làm giảm các biến chứng tại các tổ chức.

Việc chẩn đoán và theo dõi mức độ quá tải sắt tại gan, tim và ferritin huyết thanh rất có ý nghĩa để tiên lượng biến chứng tại các tổ chức do quá tải sắt gây ra và theo dõi hiệu quả điều trị thải sắt cho bệnh nhân thalassemia.

KẾT LUẬN

Qua kết quả nghiên cứu và bàn luận ở trên, chúng tôi xin đưa ra một số kết luận sau:

1. Ứng dụng Strip Assay trong chẩn đoán đột biến gen bệnh thalassemia có nhiều ưu điểm, cụ thể:

- Đã ứng dụng thành công kỹ thuật Globin Strip Assay được trong xác định các đột biến gen bệnh thalassemia ở tế bào dịch ối thai nhi, bệnh nhân và người nghi ngờ mang gen bệnh thalassemia tại Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương.

- Kỹ thuật α và β -Globin Strip Assay có thể phát hiện được hầu hết các đột biến α hoặc β -globin hay gặp ở Việt Nam trong 1 lần thực hiện xét nghiệm. Tỷ lệ các đột biến phát hiện được ở các đối tượng nghiên cứu tại Viện Huyết học – Truyền máu Trung ương, trên gen α -globin là SEA (70,9%), HbCs (15,0%), 3.7 (10,2%), (2,4%), Pakse (1,6%); trên gen β -globin là Cd17 (30,6%), Cd41/42 (27,6%), Cd26 (HbE) (24,5%), IVS1-1 (5,1%), -28 (4,6%), IVS2-654 (3,6%), Cd71/72 (3,1%), Cd95 (0,5%), Cd8/9 (0,5%).

- Kỹ thuật Globin Strip Assay đã phát hiện được một số đột biến hiếm và các kiểu đồng hợp tử đột biến hiếm gặp ở Việt Nam mà trước đây chưa phát hiện được ở Việt Nam như: đột biến Hb Pakse trên gen α -globin, đột biến Cd8/9 trên gen β -globin, đồng hợp tử HbC_s trên gen α -globin và đồng hợp tử -28 trên gen β -globin.

- Tuy nhiên, bộ kit Strip Assay chưa cho phép phát hiện được một số đột biến rất hiếm gặp ở Việt Nam và Đông Nam Á như: đột biến Cd35, đột biến -88 và -90 trên gen β -globin.

2. Kỹ thuật MRI được sử dụng hiệu quả trong chẩn đoán và theo dõi hiệu quả điều trị quá tải sắt ở bệnh nhân thalassemia, cụ thể:

- Kỹ thuật MRI dùng chỉ số LIC và T2* tim chẩn đoán chính xác mức độ quá tải sắt tại gan, tim và tiên lượng biến chứng tại các tổ chức do quá tải sắt gây ra, cụ thể có 98,8% bệnh nhân bị quá tải sắt tại gan, 15% bệnh nhân bị quá tải sắt tại tim.

- Tỷ lệ bệnh nhân bị quá tải sắt tại các tổ chức, sự tương quan giữa các chỉ số đánh giá quá tải sắt có sự khác nhau giữa các thể bệnh. Cụ thể, tỷ lệ bệnh nhân bị quá tải sắt mức độ nặng ở gan và quá tải sắt ở tim trong nhóm phụ thuộc truyền máu lần lượt là 88% và 44,2%; tỷ lệ này là 69,8% và 8,5% ở nhóm không phụ thuộc truyền máu. LIC và ferritin huyết thanh có mối tương quan thuận mức độ trung bình. LIC và T2* tim có mối tương quan nghịch mức độ yếu. T2* tim và ferritin có mối tương quan nghịch mức độ trung bình.

- Mức độ quá tải sắt có liên quan mật thiết với sự suy giảm chức năng của các cơ quan. Tỷ lệ bệnh nhân bị giảm sức bóp cơ tim là 12,3% ở nhóm có quá tải sắt tại tim, là 3,3% ở nhóm không bị quá tải sắt tại tim. Nồng độ sắt trong gan trung bình ở nhóm bệnh nhân bị xơ gan, gan xơ hóa và gan bình thường lần lượt là 18,9, 16,6 và 15 mg sắt/g gan khô. Tỷ lệ bệnh nhân bị tiền đái tháo đường ở nhóm quá tải sắt nặng tại tim và không quá tải sắt tại tim lần lượt là 65,2% và 17,7%.

- Kỹ thuật MRI dùng chỉ số LIC và T2* tim theo dõi sớm hiệu quả điều trị thải sắt trên bệnh nhân thalassemia. Sau 1 năm điều trị, nồng độ sắt trong gan giảm trung bình 2,6 mg sắt/g gan khô, T2* tim tăng 1,7 ms, ferritin huyết thanh giảm 625 ng/ml. Tương ứng là tỷ lệ bệnh nhân bị gan xơ hóa giảm 5,5% (từ 44,4% xuống 38,9%) và tỷ lệ bệnh nhân tiền đái tháo đường giảm 1,7% (từ 42,6% xuống 41,9%).

KIẾN NGHỊ

Từ các kết quả nghiên cứu và phân tích ở trên, chúng tôi xin được đề xuất một số kiến nghị:

1. Nên xây dựng bộ panel với những đột biến phổ biến cho từng khu vực, quốc gia để nâng cao khả năng phát hiện đột biến, giảm chi phí, thời gian.
2. Cần thực hiện chụp cộng hưởng từ gan, tim cho bệnh nhân thalassemia định kỳ 6 - 12 tháng/ lần để chẩn đoán sớm, chính xác mức độ quá tải sắt và theo dõi hiệu quả điều trị thải sắt cho từng người bệnh.
3. Nên quan tâm và tạo điều kiện thuận lợi nhiều hơn nữa để tất cả bệnh nhân thalassemia được điều trị thải sắt thường xuyên.
4. Cần tiếp tục nghiên cứu về hiệu quả điều trị quá tải sắt ở bệnh nhân thalassemia trong thời gian dài hơn và trên nhiều nhóm bệnh nhân thalassemia.

CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. **Nguyễn Thị Thu Hà**, Ngô Mạnh Quân, Bạch Quốc Khánh, Nguyễn Anh Trí (2014). Tổng quan về xây dựng quy trình sàng lọc thalassemia tại Việt Nam. Một số chuyên đề Huyết học - Truyền máu tập V. *Nhà xuất bản Y học*, trang 85-94.
2. Vũ Thị Bích Hương, Dương Quốc Chính, **Nguyễn Thị Thu Hà**, Nguyễn Anh Trí (2015). Cơ sở phân tử của bệnh α -thalassemia một số điểm cần lưu ý trong chẩn đoán người mang gen. *Y học Việt Nam*, tập 434 tháng 9 - năm 2015, trang 10-18.
3. **Nguyễn Thị Thu Hà**, Đặng Thị Vân Hồng, Bạch Quốc Khánh, Lê Xuân Hải, Vũ Thị Bích Hương, Trần Ngọc Quế, Nguyễn Bá Khanh, Dương Quốc Chính, Nguyễn Anh Trí (2015). Bước đầu nghiên cứu chẩn đoán trước sinh và tìm kiếm tế bào gốc ở gia đình bệnh nhân thalassemia tại Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương năm 2014 - 2015. *Y học Việt Nam*, tập 434 tháng 9 - năm 2015, trang 107-114.
4. **Nguyễn Thị Thu Hà**, Bạch Quốc Khánh, Lê Xuân Hải, Nguyễn Anh Trí (2015). Xác định tình trạng quá tải sắt trên bệnh nhân thalassemia tại Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương 2013-2014. *Y học Việt Nam*, tập 434 tháng 9 - năm 2015, trang 19-27.
5. **Nguyễn Thị Thu Hà**, Bạch Quốc Khánh, Đinh Thế Hưng, Nguyễn Hồng Hạnh, Hoàng Thị Hồng, Khúc Thị Hạnh, Nguyễn Anh Trí (2015). Bước đầu nghiên cứu biến chứng tim mạch ở bệnh nhân thalassemia. *Y học Việt Nam*, tập 434 tháng 9 - năm 2015, trang 33 - 40.
6. **Nguyễn Thị Thu Hà**, Ngô Mạnh Quân, Vũ Hải Toàn, Lê Xuân Hải, Nguyễn Ngọc Dũng, Dương Quốc Chính, Bạch Quốc Khánh, Nguyễn Anh Trí (2016). Đặc điểm một số chỉ số huyết học ở người mang gen bệnh thalassemia đến tư vấn tại Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương. *Y học Việt Nam*, tập 448 tháng 11 - năm 2016, trang 169-176.

7. Đào Thị Thiết, Nguyễn Hà Thanh, **Nguyễn Thị Thu Hà**, Ngô Mạnh Quân, Bạch Quốc Khánh (2016). Đánh giá kết quả điều trị thải sắt bằng deferasirox ở bệnh nhân thalassemia tại Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương (2016). *Y học Việt Nam*, tập 448 tháng 11 - năm 2016, trang 137-144.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Thalassemia International Federation annual report 2013
2. Bernadette Modella & Matthew Darlisona (2008). Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. *Bulletin of the World Health Organization* 2008; 86 : 480 - 487
3. Sir David J. Weatherall, Williams (2010). The Thalassemias: Disorders of Globin Synthesis. *Hematology*, 8 edit, Chapter 47.
4. Suthat Fucharoen, Pranee Winichagoon (2011). Haemoglobinopathies in Southeast Asia. *Indian J Med Res.* 2011 Oct; 134(4): 498–506.
5. Phạm Quang Vinh (2006). Bệnh huyết sắc tố. Bài giảng Huyết học Truyền máu, *Nhà xuất bản Y học*, trang 190 - 198
6. Nguyễn Công Khanh (2004), Bệnh hemoglobin. Huyết học lâm sàng Nhi khoa, *Nhà xuất bản Y học*, trang 124-147.
7. John Old, Cornelis L., Harteveld Joanne, et al. (2012). Prevention of thalassemia and other haemoglobin disorders, Volume II (2012), *Thalassemia International Federation*, 2nd edition
8. Saiki R.K., Walsh P.S., Lenven C.H et al (1989). Genetic analysis of amplified DNA with immobilized sequence-specific oligonucleotide probes. *Proceeding of the National Academy of Sciences.* 86, 6230-34
9. Puehringer H, Najmabadi H, Law HY et al. Validation of a reverse-hybridization StripAssay for the simultaneous analysis of common alpha-thalassemia point mutations and deletions. *Clin Chem Lab Med.* 2007; 45(5):605-610.
10. Cappellini MD., Cohen A., Androulala E. et al (2008). Guidelines for the clinical management of thalassemia. *Thalassaemia International Federation*, 2nd edition.

11. Cappellini MD, Vip Viprakasit, Cohen A et al (2014). Guidelines for management of transfusion dependent thalassemia (TDT). *Thalassemia International Federation*.
12. Taher A, Cappellini MD, vip Viprakasit et al. (2013). Guidelines for management of Non transfusion dependent thalassemia (NTDT), *Thalassemia International federation*.
13. P. D. Jensen, F. T. Jensen, T. Christensen et al (1994). Non-invasive assessment of tissue iron overload in the liver by magnetic resonance imaging. *Br J Haematol*, 87(1), 171-184.
14. J. C. Wood (2011). Impact of iron assessment by MRI. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2011, 443-450.
15. M. Casale, A. Meloni, A. Filosa et al (2015). Multiparametric cardiac magnetic resonance survey in children with thalassemia major: A multicenter study. *Circ Cardiovasc Imaging*, 8(8), e003230.
16. T. He (2014). Cardiovascular magnetic resonance T2* for tissue iron assessment in the heart. *Quant Imaging Med Surg*, 4(5), 407-412
17. XM Xu, YQ Zhou, GX Luo et al (2004). The prevalence and spectrum of α and β thalassaemia in Guangdong Province: implications for the future health burden and population screening. *Journal of clinical pathology*, 57(5), tr. 517-522.
18. Pan HF, Long GF, Li Q, Feng YNet al (2007). Current status of thalassemia in minority populations in Guangxi, China. *Clin Genet*. 2007 May;71(5):419-26.
19. Sean O’Riordan, Tran Tinh Hien, KatieMiles (2010). Large scale screening for haemoglobin disorders in southern Vietnam: implications for avoidance and management. *British Journal of Haematology*, 150, 359–36.

20. Vũ Bích Vân (2004). Nghiên cứu tần suất mang gen bệnh β -thalassemia ở dân tộc Nùng và Mông tại xã Tân Long, Đồng Hỷ, Thái Nguyên. *Y học thực hành* số 497-2004, trang 36-39.
21. Dương Bá Trục và cộng sự (2009). Tình hình bệnh Thalassemia và bệnh Hemoglobin ở người Mường tại Hoà Bình. *Tạp chí y học Việt Nam* tháng 9/2010, tr 47-51.
22. Phạm Quang Vinh (2006). Cấu trúc, chức năng tổng hợp huyết sắc tố. Bài giảng Huyết học Truyền máu. *Nhà xuất bản Y học*, trang 69 - 74.
23. Alain J. Marengo-Rowe (2006). Structure-function relations of human hemoglobins. *Proc (Bayl Univ Med Cent)*. 19(3): 239 - 245
24. Nguyễn Anh Trí, Nguyễn Thị Thu Hà, Bạch Quốc Khánh (2013). Bệnh tan máu bẩm sinh. *Nhà xuất bản Y học*.
25. Viprakasit V.(2013). 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 ; 7: 11-19.
26. Fucharoen S, Viprakasit V. (2009). Hb H disease: clinical course and disease modifiers. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. p26-34
27. Sripichai O, Makarasara W, Munkongdee T, et al (2008). A scoring system for the classification of beta-thalassemia/Hb E disease severity. *Am J Hematol* ; 83(6) : 482 - 484.
28. Viprakasit V., Tyan P., Rodmai S., Taher A. (2014). Identification and key management of non-transfusion-dependent thalassaemia patients: not a rare but potentially under-recognised condition. *Orphanet Journal of Rare Diseases*.
29. Higgs D.R (2013). The molecular basis of α -thalassemia. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 3(1).

30. Thein S.L (2013). The Molecular Basis of β -Thalassemia. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 3.
31. Caterina Borgna-Pignatti, Renzo Galanello (2013). Thalassemias and related Disorders: Quantitative Disorders of Hemoglobin Synthesis. *Wintrobe's Clinical Hematology* 13th Edition Chapter 34, p. 1990- P2119.
32. Trịnh Văn Bảo (2011). Di Truyền y học. *Nhà xuất bản giáo dục Việt Nam*, trang 99 - 104.
33. Steinberg M, Forget B, Higgs D, Weatherall D, et al (2009). Disorders of hemoglobin: genetics, pathophysiology and clinical management. *Cambridge University Press*, 323-356.
34. M.L. Saovaros Svasti, Tran Minh Hieu (2002). Molecular Analysis of β -Thalassemia in South Vietnam. *American Journal of Hematology* 71:85 - 88.
35. Nguyễn Quốc Cường, Bạch Khánh Hòa (2006). Tìm hiểu một số đột biến gây beta thalassemia ở người Miền Bắc Việt Nam. *Tạp chí nghiên cứu y học*, 40 (1), tr. 15-17.
36. Nguyễn Khắc Hân Hoan (2013). *Nghiên cứu tầm suất và chẩn đoán trước sinh bệnh alpha và beta thalassemia*. Luận án tiến sỹ Y khoa.
37. Liebhaber SA, Cash FE, Ballas SK (1986). Human alpha-globin gene expression. The dominant role of the alpha 2-locus in mRNA and protein synthesis. *J Biol Chem* 261:15327-15333.
38. Molchanova TP, Pobedimskaya DD, Huisman TH (1994). The differences in quantities of alpha 2 - and alpha 1-globin gene variants in heterozygotes. *Br J Haematol* ;88:300-306.
39. John S. W, David H.K. (2001). The α -globin gen cluster: genetics and disorders. *Clin. Invest. Med*, 24(2), 103-109.

40. Syahzuwan Hassan¹, Rahimah aHmad¹, Zubaidah Zakaria¹(2012). Detection of β -globin Gene Mutations Among β -thalassaemia Carriers and Patients in Malaysia: Application of Multiplex Amplification Refractory Mutation System–Polymerase Chain Reaction. *Malays J Med Sci.* Jan-Mar 2013; 20(1): 13-20.
41. Menon PK*, Nimmakayalu M, Bylappa SK (2015). A comparison of in-house Hemoglobin DNA mutation analysis for β thalassemia by ARMS PCR with a commercial Line Probe Assay. *GMJ, ASM* 2015; 4(S2):S77-82.
42. Nasrollah Saleh-Gohari, Arezo Khosravi-Mashizi (2010). Spectrum of α -globin gen mutations in the Kerman provine of Iran. *Hemoglobin*, 34 (5): 451-460.
43. Filon D, Oppenheim A, Truc DB (2000). Molecular analysis of beta-thalassemia in Vietnam. *Hemoglobin*. 2000 May;24(2):99-104
44. Lê Thị Hảo (2002). Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật di truyền phân tử phát hiện đột biến gen gây β -thalassemia tại Việt Nam. *Hội nghị khoa công nghệ tuổi trẻ các trường Đại học Y dược Việt Nam lần thứ XI*, 23-25/5/2002
45. Phạm Việt Thanh, Nguyễn Khắc Hân Hoan , Trương Đình Kiệt, Lâm Thị Mỹ (2011). Chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia trên 290 trường hợp thai. *Tạp chí nghiên cứu y học*; 74(3), tr. 1- 7.
46. Ngô Diễm Ngọc, Lý Thị Thanh Hà, Ngô Thị Tuyết Nhung (2015). Sàng lọc và chẩn đoán trước sinh bệnh α và β -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.
47. Lê Phương Thảo (2015). *Chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia bằng kỹ thuật lai phân tử*. Luận văn thạc sỹ y khoa, Đại học Y Hà Nội

48. Thái Quý, Nguyễn Hà Thanh (2006). Chuyển hoá sắt và thiếu máu thiếu sắt. *Bài giảng huyết học truyền máu*, nhà xuất bản Y học, Hà nội, trang 208 - 213.
49. Rachel casiday, Regina Frey (1999). Iron use and storage in the body: Ferritin & molecular representation. *Washington University*.
50. Martin HS, Edward JB (2005). Pathobiology of the human erythrocyte and its hemoglobin. *Hematology*, 4th edition, p.442 - 443.
51. Nancy C., Adnrews (1999). Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med* 1999; 341: 1986-1995
52. Duggan C, John B W, Allan W. (2008). Nutrition in pediatrics: Basic science, clinical applications. *BC Decker Inc Hamilton*, chapter 9, page 85.
53. Yutaka Kohgo, Katsuya Ikuta, Takaaki Ohtake (2008). Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. *Int J Hematol* (2008) 88:7–15.
54. Ugo Testa, M.D (2004). Protein of iron metabolism. *CRC press*
55. Erik R Adnerson, Yatrik M Shah (2013). Iron homeostasis in the liver. *Comprehensive Physiology* 2013 January ; 3(1): 315–330.
56. Srai SKS, Bomford A, McArdle HJ (2002). Iron transport across cell membranes: molecular understanding of duodenal and placental iron transport. *Clinical Haematology* 15, p.243–60.
57. Beguin Y (2003). Soluble transferrin receptor for the evaluation of erythropoiesis and iron status. *Clinica Chimica Acta* 329, p.9–22.
58. Tomas Ganz (2011). Hcpidin and iron regulation, 10 years later. *Blood* 2011 117:4425-4433
59. Peyssonnaux C, Zinkernagel A. S, Schuepbach R. A, et al (2007). Regulation of iron homeostasis by the hypoxia-inducible transcription factors (HIFs). *Journal of Clinical Investigation*, vol. 117, no. 7, page 1926–1932.

60. Gardenghi S, Marongiu M.F, Ramos P. (2007). Ineffective erythropoiesis in beta-thalassemia is characterized by increased iron absorption mediated by down-regulation of hepcidin AND up-regulation of ferroportin. *Blood* 2007; 109(11) page 5027-5035.
61. Tanno T, Bhanu N.V, Oneal P.A, Goh S. H (2007). High levels of GDF15 in thalassemia suppress expression of the iron regulatory protein hepcidin. *Nat med* 2007;13(9):1096-1101.
62. Ginzburg Y, Rivella S. (2011). Beta-thalassemia: a model for elucidating the dynamic regulation of ineffective erythropoiesis and iron metabolism. *Blood* 2011;118(16) page 4321-4330.
63. Musallam Km, Taher AT, Duca (2011). Levels of growth differentiation factor-15 are high and correlate with clinical severity in transfusion-independent patients with beta thalassemia intermedia. *Blood Cells mol Dis* 2011;47(4) page 232-234.
64. Angelucci E, Brittenham GM, McLaren CE, et al (2000). Hepatic iron concentration and total body iron stores in thalassemia major. *N Engl J Med*. 2000 Aug 3;343(5) page 327-31.
65. Gaël Nicolas, Caroline Chauvet, Lydie Viatte (2002). The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest*. 2002 Oct 1; 110(7) page 1037–1044.
66. Luca Melchiori, Sara Gardenghi, Stefano Rivella (2010). β -Thalassemia: HiJAKing ineffective erythropoiesis and iron overload. *Advances in Hematology*.
67. Pak M, Lopez M. A, Gabayan V, et al (2006). Suppression of hepcidin during anemia requires erythropoietic activity. *Blood*, vol. 108, no. 12, pp. 3730–3735, 2006.

68. Hannah Tamary, Hanna Shalev, Galit Perez-Avraham (2008). Elevated growth differentiation factor 15 expression in patients with congenital dyserythropoietic anemia type I. *Blood* 2008, volume 112, no 13, pp 5241 - 5244.
69. Rivella S (2012). The role of ineffective erythropoiesis in non-transfusion-dependent thalassemia. *Blood Rev* 2012;26 Suppl 1:S12-15.
70. Musallam K.M, Cappellini M.D, Wood JC, et al (2012). Iron overload in non-transfusion-dependent thalassemia: a clinical perspective. *Blood Rev* 2012;26 Suppl 1:S page 16 - 19.
71. Arch G, Mainous, James M Gill, Charles J (2005), *Transferrin Saturation, dietary iron intake and risk of cancer*. *Annals of Family Medicine* 3: p.131 - 137.
72. P. Kirk, M. Roughton, J. B. Porter et al (2009). Cardiac T2* magnetic resonance for prediction of cardiac complications in thalassemia major. *Circulation*, 120(20), page 1961-1968.
73. Wood JC (2009). Cardiac Complications in Thalassemia Major. *Hemoglobin*, **33**, tr. 81-86.
74. Aessopos A., Kati M., Farmakis D. (2007). Heart Disease In Thalassemia Intermedia: A review of the underlying pathophysiology. *Haematologica* May 2007 92: 658-665; Doi:10.3324/haematol.10915
75. Khaled M. Musallam, Cappellini M. D, John C. Wood (2011). Elevated liver iron concentration is a marker of increased morbidity in patients with β thalassemia intermedia. *Haematologica* | 2011; 96: 1605 - 1612.
76. Sergis A, Toumba M, C Kanaris et al (2007). Endocrine complications in patients with Thalassaemia Major. *Pediatr Endocrinol Rev*, p.642- 8.

77. De Sanctis V, Gamberini MR, Gilli G (2008). Hypogonadism, diabetes mellitus, hypothyroidism, hypoparathyroidism: incidence and prevalence related to iron overload and chelation therapy in patients with thalassaemia major followed from 1980 to 2007 in the Ferrara Centre". *Pediatr Endocrinol Rev.* 2008 Oct;6Suppl 1:158-69.
78. Ersi Voskaridou, Evangelos Terpos (2004). New insights into the pathophysiology and management of osteoporosis in patients with beta thalassaemia. *British Journal of Haematology* 127, p. 127-139.
79. Dresner Pollack R (2000). Bone mineral metabolism in adults with β -thalassaemia major and intermedia. *Br J Haematol.* 111(3):902-7.
80. P. Kirk, T. He, L. J. Anderson et al (2010). International reproducibility of single breathhold T2* MR for cardiac and liver iron assessment among five thalassemia centers. *J Magn Reson Imaging*, 32(2), 315-319
81. Alustiza Echeverria J. M., Castiella A., Emparanza J. I. (2012). Quantification of iron concentration in the liver by MRI. *Insights Imaging*, 3(2), 173-180.
82. St Pierre T.G., Clark P.R., Chua-anusorn W. et al (2005). Noninvasive measurement and imaging of liver iron concentrations using proton magnetic resonance. *Blood*, 105(2), 855-861.
83. Wood J.C., Enriquez C., Ghugre N., et al (2005). MRI R2 and R2* mapping accurately estimates hepatic iron concentration in transfusion-dependent thalassemia and sickle cell disease patients. *Blood*, 106(4), 1460-1465.
84. Hoàng Thị Hồng (2011). *Nghiên cứu tình trạng ú sắt của bệnh nhân Thalassaemia tại Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương*, Luận văn thạc sĩ Y khoa, Đại học Y Hà Nội, Hà Nội.

85. Garbowski M. W., Carpenter J. P., Smith G. et al (2014). Biopsy-based calibration of T2* magnetic resonance for estimation of liver iron concentration and comparison with R2 Ferriscan. *J Cardiovasc Magn Reson*, 16, 40.
86. John-Paul Carpenter, Taigang He (2011). On T2* Magnetic Resonance and Cardiac Iron. *C J.M.irculation*, 2011 April 12; 123(14): 1519–1528.
87. Hankins J. S., McCarville M. B., Loeffleret R. B. et al (2009). R2* magnetic resonance imaging of the liver in patients with iron overload. *Blood*, 113(20), 4853-4855.
88. Lâm Mỹ Hạnh (2015). Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và điều trị thải sắt trên bệnh nhân thalassemia tại khoa Huyết học bệnh viện Chợ Rẫy. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 434, trang 55-61.
89. Nguyễn Thị Hồng Hoa (2015). Đánh giá bước đầu hiệu quả điều trị thải sắt bằng deferasirox trên bệnh nhân thalassemia phụ thuộc truyền máu tại bệnh viện truyền máu huyết học. *Y học TP Hồ Chí Minh*, 19(4), trang 96-103.
90. Taher AT, Musallam KM, Wood JC, et al (2010). Magnetic resonance evaluation of hepatic and myocardial iron deposition in transfusion-independent thalassemia intermedia compared to regularly transfused thalassemia major patients. *Am J Hematol* 2010; 85 page 288–290.
91. Taher A, El-Beshlawy A, Elalfy MS, et al (2009). Efficacy and safety of deferasirox, an oral iron chelator, in heavily iron-overloaded patients with β -thalassaemia the ESCALATOR study. *Eur J Haematol*, 82(6), page 458- 465
92. Dudley J, John B P (2014). A 1-year randomized controlled trial of deferasirox vs deferoxamine for myocardial iron removal in β -thalassemia major (CORDELIA). *Blood*, 123(10), page 1447-1454.

93. Bộ Y tế (2016). Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị một số bệnh lý huyết học. *Nhà xuất bản y học*.
94. Galanello R, Eleftheriou A, Traeger synodinos J, et al (2003). Prevention of thalassemia and other hemoglobin disorder. *Thalassemia International ferderation*, volum 1.
95. Manuel A.S, Soledad O.P. (2004). Diagnosis and Therapy for Diastolic Heart Failure. *Rev Esp Cardiol*, **57**, 570-575.
96. Little Brown (1964), Diseases of the Heart and Blood Vessels: Nomenclature and Criteria for Diagnosis. *The Criteria Committee of the New York Heart Association*, Boston
97. Park M.K. (2008). Echocardiology. *Pediatric Cardiology for Practitioners*
98. Ngô Quý Châu, Nguyễn Lâm Việt, Phạm Quang Vinh (2012). Bệnh học nội khoa, *Nhà xuất bản Y học, Hà Nội*.
99. Nguyễn Anh Vũ (2014). Siêu âm tim cập nhật chẩn đoán. *Nhà xuất bản Đại học Huế*.
100. Đỗ Trung Quân (2013). Bệnh nội tiết chuyển hóa. *Nhà xuất bản Giáo dục*.
101. Lin ZH, Xin YN, Dong QJ at el (2011). Performance of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the staging of hepatitis C-related fibrosis: an updated meta-analysis. *Hepatology*. 2011 Mar;53(3):726-36. doi: 10.1002/hep.24105.
102. Telfer PT, Prestcott E, Holden S. (2000). Hepatic iron concentration combined with long-term monitoring of serum ferritin to predict complications of iron overload in thalassaemia major. *Br J Haematol*. 2000 Sep;110(4):971-7.
103. Alústiza Echeverría J.M, Agustín Castiella, Emparanza J.I. (2012). Quantification of iron concentration in the liver by MRI. *Insights Imaging*. 2012 Apr; 3(2): 173–180.

104. Kwiatkowski JL (2011). Real world use of iron chelators. *Hematology Am Soc Hematology Educ Program 2011*;2011:451-458
105. Phạm Quang Vinh, Phùng Thị Hồng Hạnh (2010). Một số đặc điểm các thể bệnh và kết quả truyền máu ở bệnh nhân thalassemia được điều trị tại Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương năm 2009. *Y học Việt Nam* tập 373 tháng 9 năm 2010, Trang 36 - 4.
106. Bạch Quốc Khánh, Vũ Hải Toàn, Nguyễn Thị Thu Hà (2015). Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, xét nghiệm và đột biến gen ở bệnh nhân β -thalassemia/HbE. *Y học Việt Nam* tập 434 tháng 9 năm 2015.
107. Phan Thị Thùy Hoa và cs (2010). Nghiên cứu một số đặc điểm bệnh nhân thalassemia điều trị tại bệnh viện TW Huế. *Y học Việt Nam* tập 373 tháng 9 năm 2010.
108. Nguyễn Thị Thu Hà và cộng sự (2016). Đặc điểm một số chỉ số huyết học ở người mang gen bệnh thalassemia đến tư vấn tại Viện Huyết học - truyền máu Trung ương. *Y học Việt Nam* tập 448 số chuyên đề, trang 169 - 176.
109. Nguyễn Kiều Giang và cộng sự (2016). Thực trạng mang gen bệnh tan máu bẩm sinh ở phụ nữ dân tộc Tày tại huyện Định Hóa tỉnh Thái Nguyên. *Y học Việt Nam* tập 448 số chuyên đề, trang 13 - 20.
110. Viprakasit V., Chanin L., et al (2013). 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* 51 (8) page 1605 – 1614.
111. Chan L C, Ma S K, Chan A Y Y (2001). Should we screen for globin gene mutations in blood samples with mean corpuscular volume (MCV) greater than 80 fL in areas with a high prevalence of thalassaemia? *J Clin Pathol* 2001;54 page 317–320.

112. Ahmad R, Saleem M, Sabrina R, et al (2013). "Distribution of alpha thalassaemia gene variants in diverse ethnic populations in Malaysia: data from the institute for medical research". *International journal of molecular sciences*, 14(9), page 18599-18614.
113. Wibhasiri Srisuwan, Thanusak Tatu (2013). Diagnosis of thalassemia carriers commonly found in Northern Thailand via a combination of MCV or MCH and PCR-based methods. *Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences.*, 46(1), page 22-32.
114. David H K Chui (2005). α -Thalassemia: Hb H Disease and Hb Barts Hydrops Fetalis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1054: 25–32
115. Liao C., Q.H. Mo, J. Li, et al. (2005). Carrier screening for α - and β -thalassemia in pregnancy: the results of an 11-year prospective program in Guangzhou Maternal and Neonatal hospital. *Prenat. Diagn.* **25**:163–171
116. Chen P, Long GF, Lin WX (2004). Homozygous hemoglobin constant spring in Guangxi province. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi.* 2004 Apr;25(4) page 205-208.
117. Azma RZ, Othman A, Azman N, (2012). Co-inheritance of compound heterozygous Hb Constant Spring and a single $-\alpha(3.7)$ gene deletion with heterozygous deltabeta thalassaemia: a diagnostic challenge. *Malays J Pathol.* 2012 Jun;34(1) page 57-62.
118. Cornelis L H., Douglas R.H. (2010) Review alpha thalassemia. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 2010, **5**:13
119. Viprakasit V¹, Tanphaichitr VS, Pung-Amritt P (2002). Clinical phenotypes and molecular characterization of Hb H-Paksé disease. *Haematologica.* 2002 Feb;87(2):117-25
120. Trần Tuấn Anh, Vũ Thị Bích Hương và cs (2016). Nghiên cứu tỷ lệ đồng hợp tử và dị hợp tử của một số đột biến trong bệnh beta thalassemia tại Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương. *Y học Việt Nam* tập 448 số chuyên đề, trang 21 – 27.

121. Renzo G., ADNroulla E., Joanne T., et al. (2008). Prevention of thalassemia and other haemoglobin disorders, Volume I. *Thalassemia International Federation*, 2nd edition.
122. Lantip R, Muhammad B., Wahyu S., et al (2016). Modifying effect of *XmnI*, *BCL11A*, and *HBSIL-MYB* on clinical appearances: A study on β -thalassemia and hemoglobin E/ β -thalassemia patients in Indonesia. *Hematology/Oncology and Stem Cell Therapy*, Volume 9, Issue 2.
123. Lai Kuan Teh, Elizabeth George, Mei I Lai (2013). Molecular basis of transfusion dependent beta-thalassemia major patients in Sabah *Journal of Human Genetics* (2014) 59, 119–123.
124. Borgna-Pignatti C, Rugolotto S, De Stefano, et al (1998). Survival and disease complications in thalassemia major. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 850:227-230.
125. Taher AT., Viprakasit V., Musallam KM. (2013). Treating iron overload in patients with non-transfusion-dependent thalassemia. *Am. J. Hematol.* 88 page 409–415.
126. Pakbaz Z , Fischer R, Fung E, et al. (2007). Serum ferritin underestimates liver iron concentration in transfusion independent thalassemia patients as compared to regularly transfused thalassemia and sickle cell patients. *Pediatr Blood Cancer*, 49(3) page 329-332.
127. Tony S, Daar S, Elshinawy M, 2012. T2* MRI in regularly transfused children with thalassemia intermedia: serum ferritin does not reflect liver iron stores. *Pediatr Hematol Oncol*, 2012 Sep; 29(6) page 579-584.
128. Azarkeivan A, Hashemieh M, Akhlaghpour S, et al (2013). Relation between serum ferritin and liver and heart MRI T2* in beta thalassaemia major patients. *East Mediterr Health J*, 19(8), page 727-732.
129. Samir A. Ammara , Khalid I (2014). Splenectomy for patients with β -thalassemia major: long-term outcomes. *The Egyptian Journal of Surgery*. Page 1110-1121.

130. Wai C.T., Greenson J.K., Fontana R.J., et al. (2003). A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C, *Hepatology*, 38 (2), pp. 518-526.
131. Yilmaz Y., Yonal O., Kurt R., ... et al. 2011, Noninvasive assessment of liver fibrosis with the aspartate transaminase to platelet ratio index (APRI): Usefulness in patients with chronic liver disease: APRI in chronic liver disease, *Hepatitis Monthly*, 11 (2), pp. 103-6
132. C K Li, K W Chik, CWK Lam et al (2001). Liver disease in transfusion dependent thalassaemia major. *Arch Dis Child* 2002;86:344–347.
133. Nguyễn Thùy Dung (2012), Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng và bước đầu đánh giá một số chỉ số APRI và fibroscan ở bệnh nhân viêm gan mạn do virus viêm gan C, *Luận văn bác sỹ nội trú, Đại học Y Hà Nội*.
134. Olynyk JK¹, St Pierre TG (2005). Duration of hepatic iron exposure increases the risk of significant fibrosis in hereditary hemochromatosis: a new role for magnetic resonance imaging. *Am J Gastroenterol*. 2005 Apr;100(4):837-41.
135. Wood J.C. (2009). History and Current Impact of Cardiac Magnetic Resonance Imaging on the Management of Iron Overload. *Circulation*, 2009 November 17; 120(20) page 1937–1939. doi:10.1161.
136. Lekawanvijit S., Chattipakorn N. (2009). Iron overload thalassemic cardiomyopathy: Iron status assessment and mechanisms of mechanical and electrical disturbance due to iron toxicity. *Can J Cardiol*. 2009 Apr; 25(4) page 213–218.
137. Quatre A., Jacquier A., Petit P. (2014). MRI monitoring of myocardial iron overload: Use of cardiac MRI combined with hepatic MRI in a cohort of multi-transfused patients with thalassaemia. *Diagnostic and Interventional Imaging* (2014) 95, 1065-1069.

138. De Sanctis V, Gamberini MR, Gilli G (2008). Hypogonadism, diabetes mellitus, hypothyroidism, hypoparathyroidism: incidence and prevalence related to iron overload and chelation therapy in patients with thalassaemia major followed from 1980 to 2007 in the Ferrara Centre, *Pediatr Endocrinol Rev.* 2008 Oct;6Suppl 1:158-69.
139. Al Hashmi H, Mula-Abed WA, Al Muslahi M, et al (2008). Prevalence of endocrinopathies in patients with Beta-thalassaemia major - a cross sectional study in oman. *Oman Med J*, 23(4) page 257-62.
140. Shirodkar A, Merchant RH, Ahmed J (2011). Evaluation of growth, puberty and endocrine dysfunctions in relation to iron overload in multi transfused Indian thalassaemia patients. *Indian J Pediatr*, 78(6) page 679 - 683.
141. Eleftheriou A, De Sanctis V, Malaventura C (2004). Prevalence of endocrine complications and short stature in patients with thalassaemia major: a multicenter study by the Thalassaemia International Federation (TIF). *Pediatr Endocrinol Rev*, 2 Suppl 2 page 249-255.
142. Bakir ML, Belhoul KM, Kadhim AM, et al (2013). Prevalence of iron overload complications among patients with b-thalassaemia major treated at Dubai Thalassaemia Centre. *Ann Saudi Med*, 33(1) page 18-21.
143. John C. Wood (2014). Use of Magnetic Resonance Imaging to Monitor Iron Overload. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2014 August ; 28(4): 747–764. doi:10.1016/j.hoc.2014.04.002.
144. Nicholas G. A, Anastasia G., Grigorios R, et al (2006). Hypoparathyroidism in transfusion-dependent patients with β -thalassaemia. *Journal of Bone and Mineral Metabolism.* March 2006, Volume 24, Issue 2, pp 138–14

145. Filosa A, Di Maio S, Aloj G (2006). Longitudinal study on thyroid function in patients with thalassemia major. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*. 2006 Dec;19(12):1397-404
146. Maria R. G., Antonella M., Vincenzo C. (2011). Diabetes Mellitus and Cardiac Complications in Thalassemia Major Patients. *Blood* 2011 118:2150.
147. Cappellini MD, Galanello R, Piga A et al (2008). Efficacy and safety of Deferasirox (Exjade®) with up to 4.5 years of treatment in patients with β -thalassemia major: A pooled analysis. *Blood*, 112(11), abstract 3878.
148. Ali T. Taher, M. Domenica Cappellini, Yesim Aydinok, et al (2015). Optimising iron chelation therapy with deferasirox for non-transfusion-dependent thalassaemia patients: 1-year results from the THETIS study. *Blood Cells, Molecules and Diseases* 57 (2016) 23–29.
149. Puliyl M, Sposto R, Berdoukas V.A, (2013). Ferritin trends do not predict changes in total body iron in patients with transfusional iron overload. *American Journal of Hematology*, Vol. 89, No. 4, April 2014 page 391 – 394.
150. Viprakasit V, Lee C.L, Chong Q.T (2009). Iron chelation therapy in the management of thalassemia: the Asian perspectives. *Int J hematol* (2009) 90 page 435 – 445.
151. Viprakasit V. IbrahimH., Shau Yin Ha et al (2011). Clinical efficacy and safety evaluation of tailoring iron chelation practice in thalassemia patients from Asia-Pacific: a subanalysis of EPIC study of deferasirox. *Int J Hematol* (2011) 93: 319-328.
152. Cohen A.R, Glimm E, Porter J.B. (2008). Effect of transfusional iron intake on response to chelation therapy in β -thalassemia major. *Blood* 2008 111 page 583-587.

153. Viprakasit V, Nuchprayoon I, Chuansumrit A. (2013). Deferiprone (GPO-L-ONEV R) monotherapy reduces iron overload in transfusion-dependent thalassemias: 1-year results from a multicenter prospective, single arm, open label, dose escalating phase III pediatric study (GPO-L-ONE; A001) from Thailand. *Wiley Online Library* (wileyonlinelibrary.com).
154. Pennell D.J, Porter J.B, Cappellini M.D. (2012). Deferasirox for up to 3 years leads to continued improvement of myocardial T2* in patients with b-thalassemia major. *Haematologica* 2012;97(6):842-848.
155. Wu SF¹, Peng CT, Wu KH, (2006). Liver fibrosis and iron levels during long-term deferiprone treatment of thalassemia major patients. *Hemoglobin*. 2006;30(2):215-8.
156. Farmaki K, Tzoumari I, Pappa C (2011). Oral chelators in transfusion-dependent thalassemia major patients may prevent or reverse iron overload complications. *Blood Cells Mol Dis*. 2011 Jun 15;47(1):33-40. doi: 10.1016/j.bcnd.2011.03.007. Epub 2011 Apr 29.

PHỤ LỤC 1

MÃU BỆNH ÁN NGHIÊN CỨU (Nhóm 1)

Mã BA:

Mã XN:

1. Hành chính

- Họ tên mẹ: Năm sinh: Dân tộc:
- Họ tên bố: Năm sinh: Dân tộc:
- Họ tên con (nếu có): Năm sinh: Dân tộc:
- Địa chỉ:

2. Tiền sử gia đình:

Bên họ nội:

Bên họ ngoại:

3. Bệnh sử

- a. Người mẹ:
- b. Người bố:
- c. Người con (nếu có)

4. Lâm sàng

- a. Người mẹ:
- b. Người bố:
- c. Người con (nếu có)

5. Xét nghiệm

Chỉ số XN	Người mẹ	Người bố	Con 1(nếu có)	Con 2(nếu có)
<i>Tổng phân tích tế bào máu:</i>				
HC (T/L)				
Hb (g/L)				
Hct (L/L)				

MCV (fL)				
MCH (pg)				
MCHC (pg)				
RDW (%)				
Thành phần huyết sắc tố				
HbA1 (%)				
HbA2 (%)				
HbE (%)				
HbF (%)				
HbH (%)				
Hb khác (%)				
Đột biến DNA				
Âm tính				
Dương tính				

6. Xét nghiệm dịch ối:

Tuổi thai

Các đột biến được khảo sát:

Đột biến phát hiện được:

7. Xét nghiệm trẻ sau sinh

- Tổng phân tích tế bào máu:
- Thành phần huyết sắc tố:
- Đột biến DNA:

V. Xét nghiệm

Chỉ số XN	Lần 1	Sau 3 tháng	Sau 6 tháng	Sau 9 tháng	Sau 12 tháng	Sau 15 tháng	Sau 18 tháng	Sau 21 tháng	Sau 24 tháng	Ghi chú
Tổng phân tích tế bào máu ngoại vi										
HC (T/L)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Hb (g/L)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Hct (L/L)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
MCV (fL)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
MCH (pg)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
MCHC (pg)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
RDW (%)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Thành phần huyết sắc tố										
HbA1 (%)	X									
HbA2 (%)	X									
HbE (%)	X									
HbF (%)	X									
HbH (%)	X									
Hb khác (%)	X									
MRI										
Gan (LIC)	X				X				X	
Tim (T2*)	X				X				X	
Sinh hóa máu										
Fe	X		X		X		X		X	
Ferritin	X		X		X		X		X	
GOT	X		X		X		X		X	
GPT	X		X		X		X		X	
Bilirubin TP	X		X		X		X		X	
Bilirubin GT	X		X		X		X		X	

Glucose lúc đói	X		X		X		X		X	
Glucose bất kì	X		X		X		X		X	
HbA1C	X		X		X		X		X	
CPK	X				X				X	
Canxi	X				X				X	
Canxi ion	X				X				X	
Canxi niệu	X				X				X	
Phosphate máu (ALP)	X				X				X	
Magne máu	X				X				X	
Vitamin B12	X				X				X	
Acid folic	X				X				X	
FSH	X				X				X	
LH	X				X				X	
Testosterone (nam)	X				X				X	>14 tuổi
Estradiol (nữ)	X				X				X	>13 tuổi
Prolactin (nữ)	X				X				X	>13 tuổi
Progesterol (nữ)	X				X				X	>13 tuổi
FT3	X				X				X	
FT4	X				X				X	
TSH	X				X				X	
PTH	X				X				X	
GH	X				X				X	
ACTH	X				X				X	

ADH	X				X				X	
Chẩn đoán hình ảnh										
Thể tích tinh hoàn (siêu âm)	X				X				X	>14 tuổi
Kích thước tử cung (siêu âm)	X				X				X	>13 tuổi
Kích thước buồng trứng (siêu âm)	X				X				X	>13 tuổi
Kích thước gan (siêu âm)	X				X				X	
Kích thước lách (siêu âm)	X				X				X	
XN sàng lọc										
HCV	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
HbsAg	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
HIV	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Điện tâm đồ	X				X				X	
Siêu âm tim	X				X				X	

VI. Điều trị

Tổng số đơn vị /thể tích khối hồng cầu được truyền trong thời gian nghiên cứu

Thuốc thải sắt: loại thuốc, liều lượng

Các điều trị khác