

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



NGÔ ĐIỂM NGỌC

**NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG,
KIỂU GEN CỦA BỆNH HbH VÀ CHẨN ĐOÁN
TRƯỚC SINH BỆNH α THALASSEMIA**

Chuyên ngành: Y sinh học - Di truyền

Mã số: 62.72.01.11

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - 2017

CÔNG TRÌNH ĐƯỢC HOÀN THÀNH TẠI
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS. TS. Trần Thị Thanh Hương

2. TS. Dương Bá Trục

Phản biện 1: PGS.TS. Trần Văn Khoa

Phản biện 2: PGS.TS. Trần Minh Điền

Phản biện 3: PGS.TS. Nguyễn Hà Thanh

Luận án đã được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án Tiến sĩ cấp Trường họp tại Trường Đại học Y Hà Nội.

Vào hồi ngày tháng năm 2017

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Quốc gia Việt Nam.
- Thư viện Trường Đại học Y Hà Nội.

ĐẶT VẤN ĐỀ

1. Tính cấp thiết của đề tài

Bệnh α -thalassemia là bệnh di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường, đặc trưng bởi sự suy giảm hoặc thiếu hụt tổng hợp chuỗi α globin trong phân tử Hemoglobin. Bệnh thuộc nhóm bệnh di truyền phổ biến nhất, là nguyên nhân gây thiếu máu tan máu hàng đầu ở trẻ em, với khoảng 5% dân số thế giới là người mang gen bệnh.

Bệnh Hemoglobin H là thể trung gian của bệnh α -thalassemia, trong đó ba trên bốn gen α globin bị đột biến. Trẻ mắc bệnh HbH thường có thiếu máu tan máu, có thể phải phụ thuộc truyền máu, gây hậu quả nghiêm trọng cho hàng loạt các cơ quan trong cơ thể. Nếu không được điều trị, trẻ mắc HbH thể nặng thường tử vong sớm, hoặc muộn hơn vì các biến chứng của bệnh.

Hội chứng phù thai do Hb Bart's là thể nặng nhất của bệnh α -thalassemia, do đột biến mất hoàn toàn bốn gen α globin, gây thiếu máu nặng, dẫn đến suy tim, tràn dịch đa màng, phù toàn thân, thường chết lưu trong khoảng từ 28-40 tuần, hoặc tử vong ngay trong vài giờ đầu sau khi sinh. Ngoài ra, hội chứng phù thai do Hb Bart's còn làm tăng nguy cơ nhiễm độc thai nghén và tiền sản giật cũng như các biến chứng sản khoa khác cho sản phụ.

Tại Việt Nam, từ năm 1985, bệnh α -thalassemia mới bắt đầu được nghiên cứu. Từ năm 2008 đến 2010, phân tích gen α -globin mới bắt đầu được tiến hành. Xác định các đột biến gây bệnh, mối liên quan giữa kiểu gen và kiểu hình của bệnh α -thalassemia, đóng vai trò quan trọng trong vấn đề tiên lượng mức độ nặng của bệnh và đưa ra các quyết định điều trị, theo dõi phù hợp.

Đặc biệt, phân tích kiểu gen là cơ sở thiết yếu cho tư vấn di truyền cho các cặp vợ chồng là người mang gen bệnh và chẩn đoán trước sinh bệnh α -thalassemia. Đây được xem là biện pháp hiệu quả và cần thiết để phòng bệnh. Tuy nhiên, chưa có các nghiên cứu sâu về vấn đề này ở Việt Nam trước đây.

2. Mục tiêu của đề tài

- Phát hiện một số đột biến trên gen α globin của bệnh nhân α -thalassemia bằng các kỹ thuật PCR, MLPA và giải trình tự gen Sanger.
- Nhận xét biểu hiện lâm sàng và kiểu gen của bệnh nhân mắc HbH.
- Chẩn đoán trước sinh bệnh α -thalassemia bằng kỹ thuật sinh học phân tử từ tế bào ối.

3. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài

Bệnh HbH có kiểu hình và kiểu gen đa dạng. Nhiều người bệnh HbH có cuộc sống bình thường ở mọi khía cạnh, và không được chẩn đoán phát hiện bệnh cho tới thời điểm trưởng thành. Tuy nhiên, có những trường hợp bệnh HbH xuất hiện triệu chứng từ rất sớm, và các biến chứng của bệnh có thể đe dọa đến tính mạng của người bệnh nếu không được điều trị. Trước đây, bệnh HbH được phân loại là nhóm bệnh thể nhẹ, nhưng những nghiên cứu gần đây cho rằng bệnh HbH thường có những biểu hiện lâm sàng phức tạp hơn những mô tả trước đó.

Mối liên quan giữa kiểu gen và kiểu hình của bệnh HbH đã được khẳng định ở nhiều nghiên cứu ở nhiều quần thể khác nhau trên thế giới. Những nghiên cứu này cũng ghi nhận, loại đột biến gen α globin có ảnh hưởng đến mức độ nặng của bệnh. Đột biến mất đoạn thường gây nhóm HbH có biểu hiện lâm sàng nhẹ hơn.

Tuy nhiên, ở các quốc gia đang phát triển, khi chẩn đoán phân tử chưa được thực hiện một cách thường quy thì việc tiên lượng bệnh HbH chưa được quan tâm một cách rõ ràng, cũng như nghiên cứu về mối tương quan giữa kiểu gen và kiểu hình của bệnh HbH vẫn chưa được thực hiện một cách hệ thống và rộng rãi.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sàng lọc các đột biến thường gặp nhất bằng kỹ thuật PCR. Đây là kỹ thuật đơn giản, được thực hiện nhanh chóng, an toàn cho phép nhận định kết quả một cách rõ ràng và chính xác, với chi phí hợp lý. Tuy nhiên, phạm vi phát hiện của kỹ thuật PCR này chỉ khu trú trong 7 đột biến thường gặp. Nếu bệnh nhân mang đột biến nằm ngoài nhóm này, thì tùy theo bản chất của đột biến còn lại có thể là đột biến

α^0 hay α^+ -thalassemia, mà chúng tôi sẽ tiếp tục lựa chọn các kỹ thuật tiếp theo là MLPA hoặc giải trình tự gen để phân tích, cho phép kiểm chứng các đột biến đã biết và phát hiện các đột biến chưa biết. Chúng tôi đã phát hiện một số đột biến hiếm gặp được phát hiện bằng hai kỹ thuật này.

Nhờ việc áp dụng thành công các kỹ thuật nói trên, các bệnh nhân HbH đã được chẩn đoán xác định bệnh và thể bệnh, chẩn đoán sớm, đóng vai trò quan trọng trong điều trị, tiên lượng, tư vấn và quản lý bệnh. Ngoài ra, nghiên cứu còn công bố những đột biến hiếm gặp, làm phong phú hơn những hiểu biết về các đột biến gây bệnh trên bệnh nhân α -thalassemia Việt Nam. Đây cũng là cơ sở cho chẩn đoán xác định người mang gen bằng phân tích gen α globin, tiến đến tư vấn di truyền và chẩn đoán trước sinh, đặc biệt cho những trường hợp có nguy cơ sinh con mắc α -thalassemia thể nặng.

4. Cấu trúc luận án:

Luận án được trình bày trong 153 trang (không kể tài liệu tham khảo và phần phụ lục). Luận án được chia làm 7 phần:

- Đặt vấn đề: 2 trang
- Chương 1: Tổng quan tài liệu 34 trang
- Chương 2: Đối tượng và phương pháp nghiên cứu 20 trang
- Chương 3: Kết quả nghiên cứu 41 trang
- Chương 4: Bàn luận 53 trang
- Kết luận: 2 trang
- Kiến nghị: 1 trang

Luận án gồm 59 bảng, 12 biểu đồ và 41 hình và 2 sơ đồ. Sử dụng 147 tài liệu tham khảo gồm tiếng Việt, tiếng Anh.

Phần phụ lục gồm: Danh sách bệnh nhân nghiên cứu, mẫu bệnh án nghiên cứu, kỹ thuật tách chiết DNA, đặc điểm huyết học và đột biến của các gia đình có kiểu gen ($--^{SEA}/-\alpha^{c.2delT}$), có đột biến hiếm gặp, có con mắc Hb Bart's còn sống sau sinh.

Chương 1: TỔNG QUAN

1.1. Định nghĩa, thuật ngữ và cơ chế bệnh sinh

Bệnh α -thalassemia là bệnh thiếu máu tan máu di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường, do giảm hoặc mất hẳn sự tổng hợp của chuỗi α globin trong phân tử Hb. Sự suy giảm tổng hợp này dẫn đến sự tăng tổng hợp quá mức của chuỗi β globin tạo phân tử γ_4 , gọi là Hb Bart's (trong thời kỳ bào thai), và β_4 , gọi là HbH (trong thời kỳ trưởng thành).

Người bình thường có hai gen α globin nằm trên mỗi NST 16, và có tổng số bốn gen α globin trên hai NST 16 tương đồng ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$). Tùy theo số lượng gen α bị đột biến, và tùy theo sự kết hợp đa dạng giữa các dạng allele đột biến khác nhau của bệnh α -thalassemia, gây ra các biểu hiện lâm sàng ở nhiều mức độ khác nhau.

Có 2 gen α globin, $\alpha 1$ và $\alpha 2$, với tổng chiều dài khoảng từ 1 đến 2kb. Mỗi gen gồm 3 exon, và 2 introns - IVS. Gen $\alpha 1$ và $\alpha 2$ có chiều dài 850bp, cùng mã hóa cho chuỗi α globin gồm 141 acid amin, là thành phần cấu tạo nên phân tử Hb của cơ thể.

Bệnh α -thalassemia do đột biến gen α globin gây nên. 90% bệnh α -thalassemia do đột biến mất đoạn một gen hoặc cả hai gen α globin. Ngoài ra, có 10% không do đột biến mất đoạn gen, mà thường là các đột biến điểm trên gen α globin gây nên.

Các đột biến mất đoạn hoặc không mất đoạn này sẽ tạo ra các allele đột biến dạng α^0 và α^+ -thalassemia. Trong đó, allele α^0 -thalassemia do loại đột biến mất đoạn hai gen α globin gây nên, allele α^+ -thalassemia hoặc do mất đoạn một gen α globin, hoặc do đột biến không mất đoạn, hay còn gọi là đột biến điểm gây nên.

Loại allele	Mô tả	Đột biến
Allele α^0 -thalassemia (--)	Đột biến mất cả 2 gen α trên cùng 1 nhiễm sắc thể dẫn đến không tổng hợp chuỗi α globin	-- ^{SEA} , -- ^{MED} , -- ^{THAI} , -- ^{FIL} , --
Allele α^+ -thalassemia (- α) hoặc ($\alpha^T\alpha$)	Đột biến mất 1 gen α trên 1 nhiễm sắc thể dẫn đến giảm tổng hợp chuỗi α globin	- $\alpha^{3.7}$, - $\alpha^{4.2}$, - α^{HbCs} , - α^{HbQs}

1.2. Biểu hiện lâm sàng liên quan đến đột biến gen

Tùy vào sự kết hợp khác nhau giữa hai dạng allele đột biến α^0 và α^+ -thalassemia, sẽ tạo ra các kiểu hình α -thalassemia khác nhau. Bệnh α -thalassemia được chia thành 4 thể tùy theo số lượng gen α globin bị đột biến, với biểu hiện lâm sàng phong phú và khác nhau ở mỗi thể bệnh.

Người mang gen α^+ -thalassemia, do đột biến một gen α globin ($-\alpha/\alpha$), không có triệu chứng trên lâm sàng và trên công thức máu, nên không thể phân biệt với người bình thường. Phân tích gen α globin mới cho phép chẩn đoán xác định.

Người mang gen α^0 -thalassemia, do đột biến hai gen α globin, gồm thể: ($--/\alpha\alpha$) và ($-\alpha/-\alpha$). Thể nhẹ, thường không có triệu chứng lâm sàng, có thiếu máu hồng cầu nhỏ nhược sắc mức độ từ nhẹ đến trung bình, với MCV và MCH giảm trên công thức máu.

Bệnh HbH là thể có triệu chứng, do đột biến 3 gen α globin, gồm thể mất đoạn ($--/-\alpha$) và thể không mất đoạn ($--/\alpha^T$). Bệnh nhân thường có thiếu máu (2,6-13,3g/dl), có lách to, vàng da, biến dạng xương ở nhiều mức độ khác nhau.

Hội chứng phù thai do Hb Bart's là thể bệnh nặng nhất của α -thalassemia, do đột biến hoàn toàn 4 gen α globin, gây suy giảm hoàn toàn khả năng sản xuất chuỗi α globin. Thai mắc Hb Bart's có phù nề, suy tim và thiếu máu kéo dài từ giai đoạn thai trong tử cung. Hầu hết thường tử vong ngay trong giai đoạn thai hoặc ngay sau khi sinh.

Kiểu hình	Gen $\alpha 1$ và $\alpha 2$	Kiểu gen
Bình thường	4 gen hoạt động	($\alpha\alpha/\alpha\alpha$)
Mang gen α^+ -thalassemia	Dị hợp tử α^+ -thal	($-\alpha/\alpha\alpha$)
Mang gen α^0 -thalassemia (Cis)	Dị hợp tử α^0 -thal	($--/\alpha\alpha$)
Mang gen α^0 -thalassemia (Trans)	Đồng hợp tử α^+ -thal	($-\alpha/-\alpha$)
HbH thể mất đoạn	Dị hợp tử kép α^0 - α^+ thal	($--/-\alpha$)
HbH thể không mất đoạn	Dị hợp tử kép α^0 - α^+ thal	($--/\alpha^T$)
Hb Bart's	Đồng hợp tử α^0 -thal	($--/--$)

1.3. Biểu hiện cận lâm sàng bệnh α -thalassemia

Xét nghiệm huyết học sử dụng để phát hiện người bệnh và sàng lọc người mang gen bệnh α -thalassemia, cho phép đánh giá tình trạng thiếu máu (Hb giảm), hồng cầu nhỏ (MCV giảm), nhược sắc (MCH giảm). Tuy nhiên những xét nghiệm này không đặc hiệu và không có giá trị chẩn đoán xác định.

Phân tích thành phần Hb được sử dụng để phân tích các thành phần Hb bất thường, đặc biệt đối với người mắc HbH, có HbA2 thường giảm rõ rệt, ngoài ra còn có thể thấy xuất hiện HbH 0,8-40%.

Phân tích gen α globin cho phép xác định đột biến gen gây bệnh. Tùy theo loại đột biến điểm hay đột biến mất đoạn, đột biến đã biết hay chưa biết mà có các lựa chọn kỹ thuật phù hợp, như ARMS-PCR, RE-PCR, GAP-PCR, MLPA, Strip Assays, giải trình tự gen Sanger.

1.4. Sàng lọc và chẩn đoán trước sinh bệnh α -thalassemia

Hiện nay chưa có biện pháp điều trị đặc hiệu bệnh α -thalassemia. Hầu hết các thai mắc α -thalassemia thể nặng (Hb Bart's) đều phù, chết lưu trong giai đoạn 3 tháng cuối của thai kỳ, hoặc tử vong sớm sau sinh. Trẻ mắc HbH thể nặng đều phải phụ thuộc truyền máu và thải sắt suốt đời, thường tử vong sớm vì các biến chứng của truyền máu.

Mục tiêu của chương trình sàng lọc đối với bệnh α -thalassemia là hạn chế tỷ lệ sinh con mắc bệnh Hb Bart's, HbH thể nặng. Thời điểm sàng lọc tốt nhất là trước khi sinh hoặc trước khi mang thai. Tất cả các sản phụ được sàng lọc bằng xét nghiệm công thức máu và điện di Hb, nếu có bất thường thì sàng lọc thêm người chồng.

Nếu cặp vợ chồng là người đã có tiền sử sinh con bệnh HbH, hoặc có thai bị phù, sẽ thuộc nhóm nguy cơ cao sinh con mắc α -thalassemia. Họ cần xét nghiệm phân tích gen α globin để xác định là người mang gen bệnh, để được tư vấn di truyền và chẩn đoán trước sinh.

Chương 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu và cỡ mẫu

Thu thập tất cả các bệnh nhân trẻ em và người lớn, đủ tiêu chuẩn nghiên cứu tại Bệnh Viện Nhi Trung Ương (BVNTW) từ 1/2012 đến tháng 12/2016, bao gồm:

- 299 bệnh nhân trẻ em và người lớn nghi ngờ mắc α thalassemia trên lâm sàng, với tiêu chuẩn: Tan máu, thiếu máu hồng cầu nhỏ nhược sắc. Hb 2,6-13,3g/dl; MCV<80fl, MCH<27pg. Điện di Hemoglobin có HbA2 giảm nhẹ hoặc bình thường, có HbH 0,8-40%, đôi khi kèm theo Hb Bart's. Có thể có gan lách to, vàng da, bộ mặt thalassemia: mũi tẹt, trán dô, hàm vẩu, có tiền sử truyền máu hoặc chưa từng phải truyền máu.

- 97 bệnh nhân được chẩn đoán xác định mắc bệnh HbH bằng phân tích đột biến gen α globin, trong đó có 86 bệnh nhi và 11 bệnh nhân là người trưởng thành.

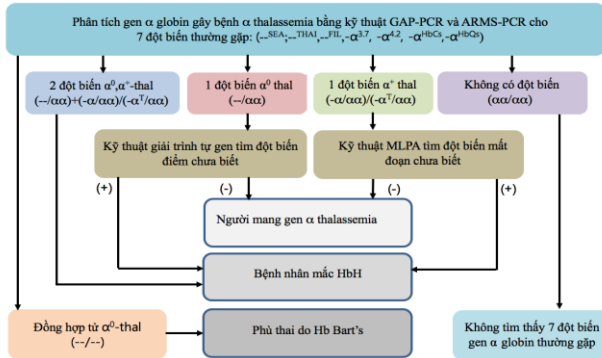
- 341 cặp vợ chồng có thai bị phù và 56 cặp vợ chồng có tiền sử sinh con mắc HbH được sàng lọc, xác định người mang gen bệnh và chẩn đoán trước sinh bệnh α thalassemia.

Các tiêu chuẩn loại trừ bao gồm: i/Bệnh nhân thiếu máu do các nguyên nhân khác. ii/Bệnh nhân không phát hiện có đột biến gen gây bệnh trên gen α globin. iii/Cặp vợ chồng chưa chẩn đoán xác định là người mang gen bệnh α -thalassemia, hoặc từ chối tham gia sàng lọc và chẩn đoán trước sinh. Sản phụ có thai dưới 16 tuần hoặc có các nguy cơ sản khoa có thể ảnh hưởng tới sự an toàn của thủ thuật chọc ối.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Ứng dụng quy trình kỹ thuật sinh học phân tử phát hiện một số đột biến gen α globin gây bệnh α thalassemia.

2ml máu tĩnh mạch chống đông EDTA của bệnh nhân nghi ngờ mắc α -thalassemia trên lâm sàng sẽ được tiến hành phân tích gen α globin tại Khoa Di truyền-SHPT, BVNTW theo các bước như sau:



2.2.2. Nhận xét mối liên quan giữa đặc điểm lâm sàng và kiểu gen của bệnh nhân mắc HbH.

Kiểu hình lâm sàng, huyết học, được tiến hành tại BVNTU: Tuổi vào viện, tuổi bắt đầu truyền máu, số lần truyền máu, tiền sử gia đình, số anh chị em bị bệnh, Tuổi, giới, các dấu hiệu da niêm mạc, gan lách to, bộ mặt thalassemia.

Xét nghiệm huyết học: thực hiện trên máy đếm tự động K4000, tại Khoa Xét nghiệm huyết học, Bệnh Viện Nhi TƯ. Các chỉ số thu thập: RBCx10¹²/dL, HGB(g/dL), HCT(%), MCV(fL), MCH(pg), MCHC(%), HbA1(%), HbA2(%), các Hb khác nếu có.

Nhận xét một số biểu hiện lâm sàng và kiểu gen của bệnh nhân HbH

2.2.3. Chẩn đoán trước sinh

12-15ml dịch ối được chọc hút từ buồng ối của sản phụ mang thai >16 tuần. Quy trình được thực hiện tại các cơ sở Sản Khoa, dưới hướng dẫn của siêu âm. Quy trình đảm bảo vô trùng. Trên cơ sở các đột biến gen đã biết sau khi phân tích gen α globin ở bố và mẹ của thai nhi, DNA của thai nhi sẽ được tiến hành phân tích gen α globin bằng các kỹ thuật sinh học phân tử tương ứng.

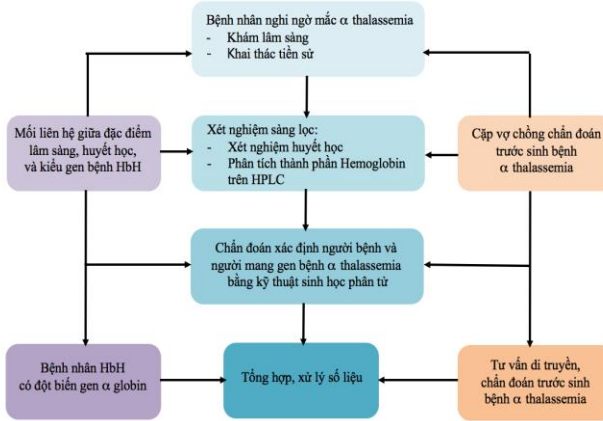
2.2.4. Xử lý số liệu thống kê

Sử dụng phần mềm SPSS version 12.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois). Các số liệu được diễn tả dưới dạng các phân bố về tần số hoặc các tham số thống kê mô tả và được thể hiện dưới dạng tỷ lệ phần trăm, hoặc trị số trung bình \pm SD và trung vị.

2.2.5. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành với sự tuân thủ về mặt y đức, được chấp thuận của hội đồng đạo đức, BVNTU, được sự đồng ý của đối tượng nghiên cứu.

2.2.6. Sơ đồ nghiên cứu

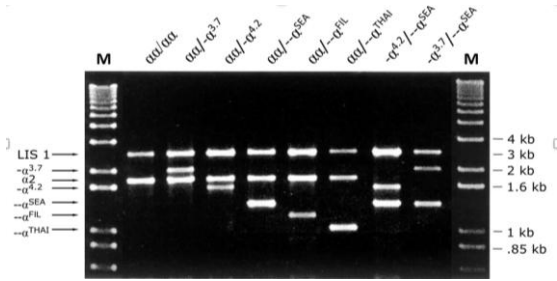


Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

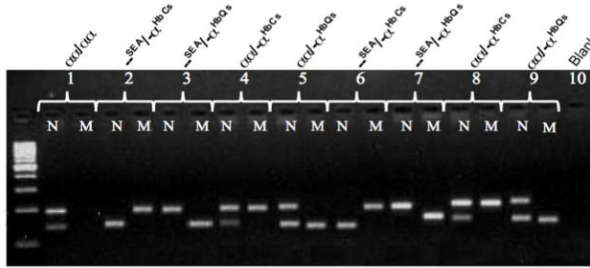
3.1. Kết quả phát hiện đột biến gen α globin của người mắc α -thalassemia bằng kỹ thuật PCR, MLPA và giải trình tự gen Sanger

3.1.1. Kết quả xác định các đột biến mất đoạn thường gặp trên bệnh nhân HbH bằng kỹ thuật GAP-PCR và ARMS-PCR

Kỹ thuật GAP-PCR được sử dụng để phát hiện 5 đột biến mất đoạn thường gặp, trong đó có 3 loại đột biến mất đoạn α^0 -thalassemia (mất 2 gen) : --^{SEA}; --^{FIL}; --^{THAI}, và 2 loại đột biến mất đoạn α^+ -thalassemia (mất 1 gen): $-\alpha^{3.7}$; $-\alpha^{4.2}$. Kỹ thuật ARMS-PCR được sử dụng để phát hiện 2 đột biến điểm thường gặp, là $-\alpha^{\text{HbCs}}$ và $-\alpha^{\text{HbQs}}$, hay còn gọi là đột biến không mất đoạn α^+ -thalassemia. Kết quả phát hiện đột biến của các kỹ thuật trên được đối chiếu với kết quả phát hiện đột biến của kỹ thuật MLPA và giải trình tự gen Sanger, hoàn toàn phù hợp.



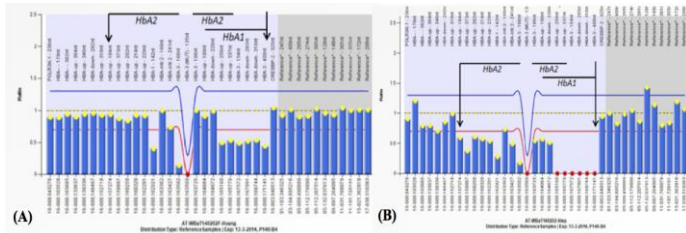
Hình 3.1. Điện di sản phẩm GAP-PCR của các bệnh nhân HbH



Hình 3.2. Điện di sản phẩm ARMS-PCR của đột biến α^{HbCs} và α^{HbQs} trên gen α globin của các bệnh nhân HbH

3.1.2. Kết quả xác định đột biến mất đoạn hiếm gặp trên bệnh nhân HbH đoạn bằng kỹ thuật MLPA

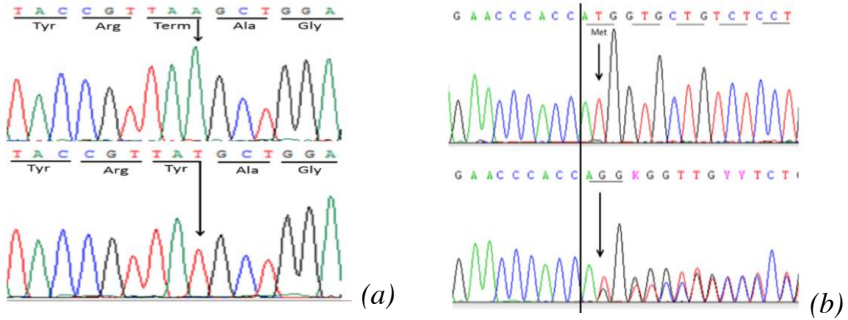
Nghiên cứu phát hiện 1/97 (1,03%) bệnh nhân mắc HbH mang kiểu gen mất đoạn hiếm gặp --SEA/-α1, bao gồm dị hợp kép đột biến mất đoạn 2 gen --SEA, kết hợp với một đột biến mất đoạn 1 gen -α1. Kết quả MLPA cho thấy, bệnh nhân và bố bệnh nhân đều mang đột biến dị hợp tử mất đoạn toàn bộ gen α1.



Hình 3.6. Kết quả MLPA của gia đình bệnh nhân --SEA/-α1.

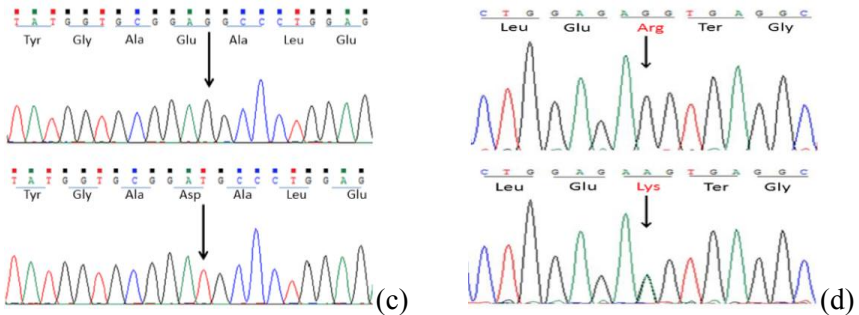
(A): Mẫu mất đoạn dị hợp tử gen $\alpha 1$ của bố bệnh nhân. (B): Mẫu mất đoạn đồng hợp tử gen $\alpha 1$ của bệnh nhân.

3.1.3. Kết quả xác định đột biến điểm hiếm gặp trên bệnh nhân HbH bằng kỹ thuật giải trình tự gen Sanger



Hình: (a) c.426 A>T (p.Term142Tyr) - Hb Parkse;

(b) c.2delT (p.Met1Argfs)

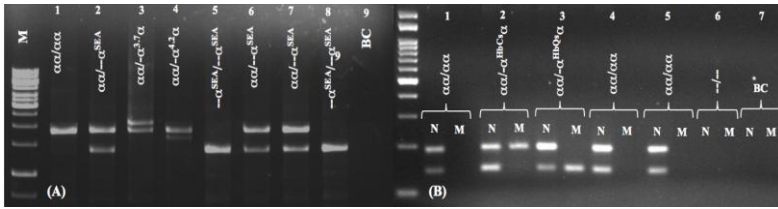


Hình: (c) c.81G>T (p.Glu27Asp) - Hb Hekinan;

(d) c.92G>A (p.Arg31Lys)

3.1.4. Kết quả xác định đột biến gen α globin của bệnh nhân mắc Hb Bart's còn sống sau sinh bằng kỹ thuật PCR, MLPA

Chúng tôi phát hiện một gia đình có một con gái mang kiểu gen đồng hợp tử ($--^{SEA}/--^{SEA}$), mắc Hb Bart's hiện đang 4 tuổi. Bố và mẹ bệnh nhân đều mang kiểu gen dị hợp tử ($--^{SEA}/\alpha\alpha$). Kiểu gen của cả gia đình đã được phát hiện bằng kỹ thuật GAP-PCR và ARMS-PCR. Sau đó được đối chiếu bằng kỹ thuật MLPA và giải trình tự gen Sanger.

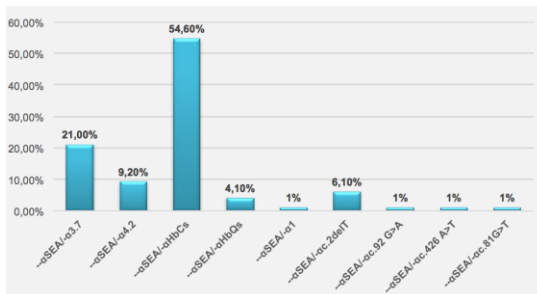


Hình 3.12. (A) GAP-PCR, (B) ARMS-PCR sàng lọc 7 đột biến thường gặp trên gen α globin

Bảng 3.1. Đột biến gen α globin của người nghi ngờ mắc α -thalassemia

Loại bệnh nhân	Số BN	(%)
Bệnh nhân mắc bệnh HbH (--/- α) hoặc (--/- α^T)	97	32,4
Bệnh nhân mắc Hb Bart's (--/--)	1	0,33
Bệnh nhân không có đột biến gen α globin ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$)	114	38,1
Bệnh nhân có đột biến dị hợp tử gen α globin	87	29,1
Dị hợp tử dạng -- ^{SEA}	80	
Dị hợp tử dạng - $\alpha^{3.7}$	7	
Tổng số bệnh nhân phân tích đột biến gen α globin	299	100

Nhận xét: Phát hiện 97/299 (32,4%) bệnh nhân mắc HbH, 114/299 (38,1%) người không phát hiện thấy đột biến, 87/299 (29,1%) bệnh nhân mang đột biến dị hợp tử, với 2 loại đột biến là --^{SEA} (91,9%) và - $\alpha^{3.7}$ (9,1%). Đặc biệt chúng tôi phát hiện 1 bệnh nhân mắc Hb Bart's (0,33%) còn sống sau sinh.



Biểu đồ 3.1. Tỷ lệ các loại kiểu gen của 97 bệnh nhân HbH

Nhận xét: Bệnh nhân HbH có kiểu gen ($--^{SEA}/-\alpha^{HbCs}$) chiếm tỷ lệ cao nhất 54,6%. Tiếp theo là kiểu gen ($--^{SEA}/-\alpha^{3.7}$) chiếm 21,6%, ($--^{SEA}/-\alpha^{4.2}$) chiếm 9,2%. Các kiểu gen khác chiếm tỷ lệ thấp hơn.

Bảng 3.2. Tỷ lệ các allen đột biến của 97 bệnh nhân HbH

Tên đột biến	Kiểu đột biến	Số allen	%
Đột biến mất đoạn 2 gen	$--^{SEA}/\alpha\alpha$	194	50
Đột biến mất đoạn 1 gen lệch phải	$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$	42	10,8
Đột biến mất đoạn 1 gen lệch trái	$-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$	18	4,6
Đột biến mất đoạn 1 gen $\alpha 1$	$-\alpha 1/\alpha\alpha$	2	0,5
TAA>CAA codon 142 gen $\alpha 2$	$-\alpha^{HbCs}/\alpha\alpha$	106	27,3
CTG>CCG codon 125 gen $\alpha 2$	$-\alpha^{HbQs}/\alpha\alpha$	8	2,1
ATG>A-G codon ATG gen $\alpha 2$	$-\alpha^{c.2delT}/\alpha\alpha$	12	3,1
AGG>AAG codon 31 gen $\alpha 2$	$-\alpha^{c.92G>A}/\alpha\alpha$	2	0,5
TAA>TAT codon TAA gen $\alpha 2$	$-\alpha^{c.426A>T}/\alpha\alpha$	2	0,5
GAG>GAT codon 27 gen $\alpha 1$	$-\alpha^{c.81G>T}/\alpha\alpha$	2	0,5
Tổng số		388	100

Nhận xét: Allen $--^{SEA}/\alpha\alpha$ chiếm tỷ lệ cao nhất là 50%. Tiếp theo đến allen $-\alpha^{HbCs}/\alpha\alpha$ là 27,8% và allen $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ là 10,8%

3.2. Mối liên hệ giữa đặc điểm lâm sàng và kiểu gen của bệnh HbH

Chúng tôi đã chẩn đoán xác định 97 bệnh nhân mắc bệnh HbH bằng kỹ thuật sinh học phân tử. Dựa vào kết quả phân tích đột biến gen α globin, các bệnh nhân HbH được chia thành 2 nhóm nghiên cứu.

- Nhóm HbH có đột biến mất đoạn ($--/-\alpha$): 31/97 (31,9%)
- Nhóm HbH có đột biến không mất đoạn ($--/-\alpha^T$): 66/97 (68%)

Bảng 3.31. Một số đặc điểm lâm sàng và huyết học của bệnh HbH

Đặc điểm (N=97)	Bệnh HbH		P
	(--/- α)(31)	(--/- α^T)(66)	
Số lần truyền máu/năm	0,27 \pm 0,76	3,2 \pm 4,0	< 0,001
Tuổi vào viện	10,58 \pm 12,3	6,1 \pm 5,8	0,048
Mức độ thiếu máu	24,3%	75,7%	0,004
Gan 1 - 2 cm dưới bờ sườn	22,5%	39,3%	0,001
Gan \geq 3 cm dưới bờ sườn	6,4%	31,8%	
Lách 1 - 2 cm dưới bờ sườn	12,9%	34,8%	<0,001
Lách \geq 3 cm dưới bờ sườn	6,4%	33,3%	
Biến dạng xương	6,4%	60,6%	<0,001
Hb (g/dL)	86,46 \pm 14,93	74,92 \pm 12,75	0,004
RBCx10 ¹² /L	5,3 \pm 0,55	4,08 \pm 0,91	< 0,001
HCT (%)	29,71 \pm 4,26	27,87 \pm 6,04	0,13
MCV (fL)	58,06 \pm 9,19	67,53 \pm 10,93	< 0,001
MCH (pg)	17,28 \pm 2,93	19,23 \pm 3,51	0,009
MCHC (%)	29,66 \pm 2,93	28,51 \pm 2,42	0,046
HbA1 (%)	90,6 \pm 6,71	87,42 \pm 5,87	0,001
HbA2 (%)	1,85 \pm 1,4	1,87 \pm 1,22	0,09
HbH (%)	6,4 \pm 6,53	9,19 \pm 5,0	<0,001

Nhận xét: Nhóm bệnh HbH (--/- α^T) có biểu hiện lâm sàng và huyết học nặng hơn nhóm (--/- α): truyền máu nhiều hơn, tuổi vào viện sớm hơn, thiếu máu, gan lách to, biến dạng xương nhiều hơn. HGB, HCT, MCHC thấp hơn, trong khi MCV, MCH và HbH cao hơn, với $p < 0,05$. HCT và HbA2 có $p > 0,05$.

Bảng 3.32. Một số biểu hiện lâm sàng và huyết học của từng loại đột biến gây bệnh HbH

Đặc điểm	-- ^{SEA} / _{-α} ^{3.7}	-- ^{SEA} / _{-α} ^{4.2}	-- ^{SEA} / _{-α} ^{HbQs}	-- ^{SEA} / _{-α} ^{c.2delT}	-- ^{SEA} / _{-α} ^{HbCs}	p
N	21	9	4	6	53	
TM = 0	17 (80%)	7 (77,7%)	1 (25%)	3 (50%)	3 (5,6%)	< 0,001
TM rải rác	4 (19%)	2 (22,2%)	3 (75%)	2 (33,3%)	40 (75,4%)	< 0,001
Phụ thuộc TM	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (16,6%)	10 (18,9%)	< 0,001
TM/năm (lần)	0,24 ± 0,39	1,49 ± 3,61	1,38 ± 1,38	3,0 ± 5,13	3,32 ± 3,77	0,034
Tuổi vào viện	11,24 ± 13,65	9,2 ± 9,48	6,42 ± 8,92	5,75 ± 4,49	5,8 ± 5,85	0,045
Thiếu máu	11,10%	13,90%	50,0%	66,60%	68,10%	0,002
Hb (g/dl)	93,22 ± 17,03	95,6 ± 15,29	84,93 ± 12,01	84,0 ± 18,25	75,37 ± 14,46	< 0,001
RBCx10 ¹² /L	5,33 ± 0,62	5,23 ± 0,38	4,8 ± 0,87	4,51 ± 0,78	3,96 ± 0,89	< 0,001
HCT(%)	38,28 ± 14,3	30,69 ± 4,47	27,66 ± 3,04	28,58 ± 6,16	27,03 ± 4,56	< 0,001
MCV(fL)	67,9 ± 10,46	54,12 ± 5,13	59,94 ± 10,17	59,42 ± 2,69	77,75 ± 16,77	< 0,001
MCH(pg)	19,06 ± 2,9	16,22 ± 1,5	17,79 ± 3,32	17,04 ± 0,57	25,6 ± 6,72	< 0,001
MCHC(%)	32,3 ± 2,06	30,4 ± 2,35	29,3 ± 3,16	29,5 ± 1,43	28,1 ± 23,2	0,003
HbA1(%)	91,69 ± 6,83	88,33 ± 6,16	89,78 ± 2,16	85,08 ± 4,8	87,26 ± 6,11	0,056
HbA2(%)	1,79 ± 0,75	2,21 ± 2,31	1,72 ± 0,5	2,18 ± 1,58	1,98 ± 1,2	0,909
HbH(%)	8,15 ± 5,39	10,27 ± 6,95	8,5 ± 2,65	9,48 ± 3,15	10,7 ± 4,22	0,469

Nhận xét: (TM: truyền máu). Các kiểu gen được xếp theo thứ tự từ trái sang phải, tăng dần về độ nặng của các biểu hiện lâm sàng và cận lâm sàng, biểu hiện ở hầu hết các chỉ số nghiên cứu, với p<0,05. HbA1, HbA2, HbH có p>0,05.

3.3. Chẩn đoán trước sinh bệnh α -thalassemia

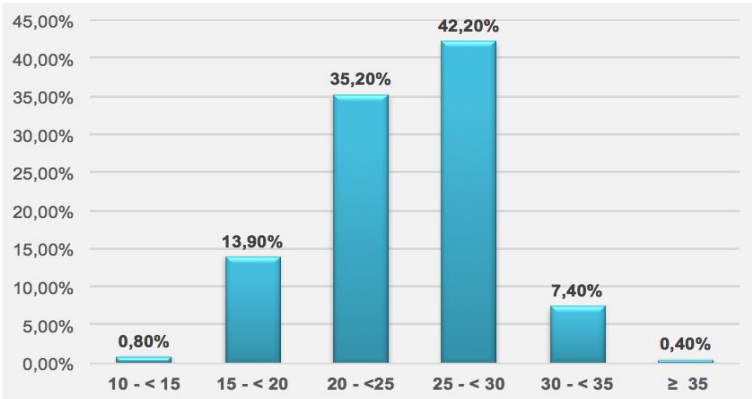
3.3.1. Sàng lọc và chẩn đoán xác định người mang gen bệnh α -thalassemia trên các cặp vợ chồng có thai bị phù

Chúng tôi sử dụng chỉ số MCV<80fL, MCH<27pg, điện di hemoglobin để sàng lọc người mang gen bệnh thalassemia, đồng thời đối chiếu và chẩn đoán xác định tình trạng mang gen bệnh α -thalassemia cho 341 cặp vợ chồng có thai bị phù bằng phân tích gen α globin.

Bảng 3.33. Kết quả sàng lọc và chẩn đoán xác định người mang gen α -thalassemia trên các cặp vợ chồng có thai bị phù

Đối tượng	N	%	Kiểu gen
Tổng số cặp vợ chồng có thai bị phù	341	100	
Cặp vợ chồng dương tính với test sàng lọc	275	80,6	
Cặp vợ chồng có đột biến gen α globin	292	85,6	-- ^{SEA} / $\alpha\alpha$
Cặp vợ chồng không mang gen α thalassemia	49	14,3	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$

Nhận xét: Có 341 cặp vợ chồng có thai bị phù được sàng lọc bằng phương pháp trên, phát hiện 275/341 (80,6%) cặp vợ chồng, trong đó cả vợ và chồng đều có MCV<80fL, MCH<27pg. Phân tích gen α globin bằng kỹ thuật PCR cho 341 cặp vợ chồng có thai bị phù, đối chiếu với chỉ số MCV, MCH và HbA2, phát hiện 292/341 (85,6%) cặp vợ chồng là người mang gen α^0 -thalassemia, 100% đều có kiểu gen --^{SEA}/ $\alpha\alpha$. Có 49 (14,3%) cặp vợ chồng có thai bị phù không phải là người mang gen α -thalassemia, có kiểu gen $\alpha\alpha/\alpha\alpha$. Như vậy, tỷ lệ phát hiện người mang gen α -thalassemia trên các cặp vợ chồng có thai bị phù bằng chỉ số “MCV<80fL và MCH<27pg” là 275/292 (94,1%). Có 17 (4,98%) cặp vợ chồng có thai bị phù được chẩn đoán xác định là người mang gen α^0 -thalassemia bằng phân tích gen α globin, mà có vợ hoặc chồng có MCV>80fL hoặc MCH>27pg.



Biểu đồ 3.12: Tuần thai của các sản phụ mang gen α -thalassemia

Nhận xét: Trong tổng số các 244 sản phụ có thai bị phù, thời điểm phát hiện thai bị phù phổ biến nhất nằm khoảng từ 25 - 30 tuần thai, chiếm 42,2%, tiếp theo là từ 21-24 tuần, chiếm 35,2%. Có 14,7% thai bị phù được phát hiện sớm dưới 20 tuần. Thời điểm phát hiện sớm nhất là 10 tuần, và muộn nhất là 38 tuần.

Nguy cơ bệnh	Số thai	Kết quả chẩn đoán trước sinh (%)		
		Bình thường	Dị hợp tử	Thai bệnh
Hb Bart's	123 (100%)	47 (38,2%)	32 (26,0%)	44 (35,7%)
HbH	56 (100%)	11 (19,6%)	36 (64,2%)	9 (16,0%)
Tổng	179 (100%)	58 (32,4%)	68 (37,9%)	53 (29,6%)

Nhận xét: Chẩn đoán trước sinh cho tổng số 179 sản phụ, trong đó có 123 sản phụ có nguy cơ sinh con phù thai do Hb Bart's, và 56 sản phụ có nguy cơ sinh con mắc HbH. Kết quả chẩn đoán trước sinh phát hiện tổng số 58/179 (32,4%) thai khỏe mạnh, 68/179 (37,9%) thai dị hợp tử, 53/179 (29,6%) thai mắc bệnh.

Bảng 3.43: Kiểu gen của các thai nguy cơ với bệnh HbH được chẩn đoán trước sinh

Kiểu gen của thai	Số thai	Tỷ lệ %
Bình thường ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$)	11	19,6
Dị hợp tử	36	64,2
($--^{SEA}/\alpha\alpha$)	25	44,6
($-\alpha^{3,7}/\alpha\alpha$)	4	7,1
($-\alpha^{4,2}/\alpha\alpha$)	2	3,5
($-\alpha^{HbQs}/\alpha\alpha$)	1	1,7
($-\alpha^{HbCs}/\alpha\alpha$)	4	7,1
Mắc HbH	9	16,0
($--^{SEA}/-\alpha^{4,2}$)	1	1,7
($--^{SEA}/-\alpha^{HbCs}$)	7	12,5
($--^{SEA}/-\alpha^{c,2del\Gamma}$)	1	1,7
Tổng	56	100

Nhận xét: Chẩn đoán trước sinh cho 56 thai có nguy cơ mắc HbH, phát hiện 11 thai bình thường (19,6%), 36 thai dị hợp tử (64,2%), và 9 thai mắc bệnh HbH (16,0%). Thai dị hợp tử đột biến ($--^{SEA}/\alpha\alpha$) chiếm tỷ lệ cao nhất là 44,6%, tiếp theo là dị hợp tử đột biến ($-\alpha^{3,7}/\alpha\alpha$) và ($-\alpha^{HbCs}/\alpha\alpha$) cùng chiếm 7,1%. Thai mắc HbH có kiểu gen ($--^{SEA}/-\alpha^{HbCs}$) cao nhất chiếm 12,5%.

Chương 4: BÀN LUẬN

4.1. Về đột biến gen α globin gây bệnh α -thalassemia phát hiện bằng kỹ thuật PCR, MLPA và giải trình tự gen

Có 97 bệnh nhân mắc bệnh HbH đã được chẩn đoán xác định bằng kỹ thuật sinh học phân tử. Trong đó, 32% thuộc nhóm HbH dạng mất đoạn, ($--/\alpha$), 68% thuộc nhóm HbH dạng không mất đoạn ($--/\alpha^T$).

Tỷ lệ về kiểu gen của bệnh HbH rất khác nhau ở các nghiên cứu trên các chủng tộc khác nhau. Một nghiên cứu trên 595 bệnh nhi mắc HbH ở Guangxi Trung Quốc, tỷ lệ HbH dạng ($--/\alpha$) là 59,5%, dạng ($--/\alpha^T$) là 40,5%. Ở Thái Lan, tỷ lệ này có sự khác nhau giữa miền Bắc và miền Nam. Ở miền Bắc, 56% bệnh nhân thuộc nhóm ($--/\alpha$) và 44% bệnh nhân thuộc nhóm ($--/\alpha^T$), trong khi ở miền Nam tỷ lệ này có xu hướng ngược lại, lần lượt là 47% và 53%. Như vậy, tỷ lệ bệnh nhân HbH dạng ($--/\alpha^T$) trong nghiên cứu của chúng tôi là cao nhất so với các nghiên cứu kể trên. Nhóm HbH dạng ($--/\alpha^T$) thường có biểu hiện lâm sàng sớm và nặng, trong khi nhóm bệnh nhân HbH dạng ($--/\alpha$) thường có biểu hiện lâm sàng nhẹ hoặc không có biểu hiện lâm sàng có thể nhận thấy. Do đó, thực tế các bệnh nhân chỉ đến Viện khám khi có các dấu hiệu lâm sàng rõ, hoặc cần phải can thiệp điều trị. Điều này có thể giải thích số bệnh nhân HbH ($--/\alpha^T$) trong nghiên cứu của chúng tôi gặp nhiều hơn dạng ($--/\alpha$).

4.2. Về mối quan hệ kiểu gen, lâm sàng và huyết học của bệnh HbH

4.2.1. Mối liên quan giữa đặc điểm lâm sàng và hai nhóm bệnh HbH

Khi so sánh các đặc điểm lâm sàng và huyết học của hai nhóm bệnh ($--/\alpha^T$) và ($--/\alpha$), chúng tôi nhận thấy, bệnh nhân HbH thuộc nhóm không mất đoạn có biểu hiện lâm sàng nặng hơn so với nhóm bệnh nhân mất đoạn: ($--/\alpha^T$) > ($--/\alpha$) như sau: Số lần truyền máu trung bình nhiều hơn (3,2 lần/năm > 0,27 lần/năm), tuổi vào viện sớm hơn (6,1 tuổi > 10,58 tuổi), có biểu hiện thiếu máu với HGB < 90g/dL nhiều hơn (75,5% > 24,3%), tỷ lệ bệnh nhân có gan to ở cả 2 mức độ 2 và 3cm dưới bờ sườn cao hơn (71,1% > 28,9%), tỷ lệ bệnh nhân có lách to ở cả 2 mức độ 2 và 3 cm dưới bờ sườn cao hơn (68,1 > 19,3%), tỷ lệ có bệnh nhân có

bộ mặt thalassemia cao hơn (60,6%>6,4%). Những bệnh nhân thuộc nhóm ($--/\alpha^T$) có biểu hiện thiếu máu nặng hơn cụ thể có Hb máu thấp hơn (74,92g/dL<86,4g/dL), HCT thấp hơn (27,87%< 29,71%), tình trạng thiếu máu hồng cầu nhỏ nhược sắc và tan máu nặng hơn, thể hiện trên chỉ số MCV cao hơn (67,53fL>58,06fL), MCH cao hơn (19,13pg>17,28pg), MCHC thấp hơn (28,51%<29,66%). Điện di hemoglobin có tỷ lệ HbH cao hơn (9,19%>6,4%) và xuất hiện có Hb Bart's. Những sự khác biệt kể trên đều có ý nghĩa thống kê với $p<0,05$. Kết luận này của chúng tôi hoàn toàn phù hợp với kết luận của các nghiên cứu khác về vấn đề này.

4.2.1. Mối liên quan giữa lâm sàng và từng kiểu gen của bệnh HbH

Hiện nay chưa có khảo sát về sự khác biệt về đặc điểm lâm sàng của từng kiểu gen khác nhau trong cùng một nhóm bệnh. Từ đó, chúng tôi tiến hành phân nhóm bệnh nhân theo kiểu đột biến. Chúng tôi mô tả một số đặc điểm lâm sàng và huyết học của 5 nhóm kiểu đột biến. Khi so sánh các biểu hiện lâm sàng và chỉ số huyết học trong phạm vi của nghiên cứu này, các bệnh nhân HbH với các kiểu gen khác nhau có sự khác biệt, có thể được xếp theo mức độ từ nặng đến nhẹ như sau: ($--^{SEA}/-\alpha^{HbCs}$)>($--^{SEA}/-\alpha^{c.2delT}$)>($--^{SEA}/-\alpha^{HbQs}$)>($--^{SEA}/-\alpha^{4.2}$)>($--^{SEA}/-\alpha^{3.7}$).

Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p<0,05$.

4.2.2. Chẩn đoán trước sinh bệnh α -thalassemia

Trong 4 năm, đã có tổng số 179 thai có nguy cơ cao mắc bệnh α -thalassemia được chẩn đoán trước sinh, trong đó bao gồm 123 thai có nguy cơ mắc Hb Bart's và 56 thai có nguy cơ mắc HbH, phát hiện 58/179 (32,4%) số thai bình thường, 68/179 (37,9%) thai dị hợp tử, 53/179 (29,6%) thai mắc bệnh. Kết quả này tương tự với kết quả trong nghiên cứu của Đài Loan thống kê trong 6 năm trên 102 thai được chẩn đoán trước sinh bệnh α thalassemia, phát hiện 29,5% thai bình thường, 47,05% thai dị hợp tử và 23,5% thai mắc bệnh. Tỷ lệ này trong nghiên cứu ở Miền Bắc Thái Lan thống kê trong vòng 16 năm chẩn đoán trước sinh cho 846 thai có nguy cơ mắc Thalassemia thể nặng, trong đó thai có nguy cơ với bệnh Hb Bart's là 341/646 (40,3%). Kết quả phát hiện có 27% thai bình thường, 47,5% thai dị hợp tử, 25,5% thai mắc Hb Bart's.

KẾT LUẬN

Căn cứ trên 3 mục tiêu của nghiên cứu, bằng việc áp dụng kỹ thuật PCR, MLPA và giải trình tự gen Sanger để phát hiện đột biến gen α globin, phân tích đặc điểm lâm sàng, huyết học và kiểu gen của bệnh nhân HbH, sàng lọc, chẩn đoán xác định người mang gen bệnh và chẩn đoán trước sinh bệnh α thalassemia, chúng tôi rút ra một số kết luận như sau:

1. Phát hiện đột biến gen α globin của người mắc α -thalassemia

Trong số 299 bệnh nhân nghi ngờ mắc thalassemia trên lâm sàng, tỷ lệ phát hiện có đột biến gen α globin là 61,5%. Tỷ lệ phát hiện bệnh HbH dựa vào phân tích gen α globin là 97/299 (32,4%). Tỷ lệ phát hiện người mang gen bệnh α -thalassemia là 87/299 (29,1%), trong đó 91% là người mang gen loại mất đoạn 2 gen --^{SEA}, 9,1% là người mang gen loại mất đoạn 1 gen - α ^{3.7}.

Đã phát hiện 5 loại đột biến thường gặp, trong đó có 3 loại đột biến mất đoạn bao gồm: --^{SEA} (50%), - α ^{3.7} (10,8%), - α ^{4.2} (4,6%), và có 2 loại đột biến điểm bao gồm - α ^{HbCs} (27,8%), - α ^{HbQs} (2,1%).

Phát hiện 5 loại đột biến hiếm gặp trên bệnh nhân HbH của Việt Nam: - α 1 (0,5%), - α ^{c.2delT} (3,1%), - α ^{c.92 G>A} (0,5%), - α ^{c.426 A>T} (0,5%) tạo Hb Pakse, - α ^{c.81G>T} (0,5%) tạo Hb Hekinan.

Xác định 8 kiểu gen của bệnh HbH: --^{SEA}/ α ^{HbCs} (54,6%); --^{SEA}/ α ^{3.7} (21,6%); --^{SEA}/ α ^{4.2} (9,2%); --^{SEA}/ α ^{c.2delT} (6,1%); --^{SEA}/ α ^{HbQs} (4,1%); --^{SEA}/ α 1 (1%); --^{SEA}/ α ^{c.92 G>A} (1%); --^{SEA}/ α ^{c.426 A>T} (1%), --^{SEA}/ α ^{c.81G>T} α (1%).

Lần đầu tiên phát hiện một trường hợp bệnh nhân mắc bệnh Hb Bart's kiểu gen (--^{SEA}/--^{SEA}), hiện 4 tuổi, phụ thuộc truyền máu.

2. Mối liên hệ giữa kiểu gen và kiểu hình của bệnh HbH

Bệnh HbH có mối liên quan chặt chẽ giữa kiểu gen và kiểu hình. Dựa trên kiểu gen, 97 bệnh HbH được chia thành 2 thể: 31,9% là thể mất đoạn gen (--/ α), 68,1% là thể không mất đoạn gen (--/ α ^T).

HbH thể không mất đoạn gen có biểu hiện lâm sàng nặng hơn thể mất đoạn gen ($--/-\alpha^T$) > ($--/-\alpha$) ($p < 0,05$).

Mức độ biểu hiện lâm sàng của các kiểu gen theo thứ tự giảm dần với ($p < 0,05$): ($--\alpha^{SEA}/-\alpha^{HbCs}$) > ($--\alpha^{SEA}/-\alpha^{c.2delIT}$) > ($--\alpha^{SEA}/-\alpha^{HbQs}$) > ($--\alpha^{SEA}/-\alpha^{4.2}$) > ($--\alpha^{SEA}/-\alpha^{3.7}$).

3. Chẩn đoán trước sinh bệnh α -thalassemia

Sàng lọc người mang gen α -thalassemia cho 341 cặp vợ chồng có thai bị phù bằng MCV < 80fL và MCH < 27pg: phát hiện 275/341 (80,6%) cặp vợ chồng dương tính với xét nghiệm sàng lọc.

Phân tích gen α globin cho 341 cặp vợ chồng có thai bị phù: phát hiện 292/341 (85,6%) cặp vợ chồng cùng là người mang gen α^0 -thalassemia dạng ($--^{SEA}/\alpha\alpha$), có nguy cơ cao sinh con mắc Hb Bart's.

Chẩn đoán xác định người mang gen bệnh α -thalassemia cho 56 cặp vợ chồng có tiền sử sinh con mắc HbH, với các kiểu gen: $--^{SEA}/\alpha\alpha$ (50%), $-\alpha^{HbCs}/\alpha\alpha$ (31,2%); $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ (4,5%); $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ (4,5%); $-\alpha^{c.2delIT}/\alpha\alpha$ (4,5%); $-\alpha^{HbQs}/\alpha\alpha$ (2,67%); $-\alpha^{c.92G>A}/\alpha\alpha$ (1,7%), $-\alpha 1/\alpha\alpha$ (1,7%).

Có 179 sản phụ đã được chẩn đoán trước sinh, trong đó có 123 sản phụ nguy cơ cao với bệnh Hb Bart's và 56 sản phụ nguy cơ cao với bệnh HbH. Kết quả chẩn đoán trước sinh phát hiện 58 (32,4%) thai bình thường, 68 (38%) thai dị hợp tử và 53 (29,6%) thai mắc bệnh. Trong 53 thai mắc bệnh, phát hiện 44 thai mắc bệnh Hb Bart's và 9 thai mắc bệnh HbH.

Các trường hợp có đối chiếu kết quả giữa chẩn đoán trước sinh với chẩn đoán sau sinh, hoặc với thai có chỉ định định chỉ bằng máu cuống rốn, đều cho kết quả phù hợp.

KIẾN NGHỊ

- Cần phân tích gen α globin bằng kỹ thuật sinh học phân tử để chẩn đoán xác định bệnh HbH và Hb Bart's, xác định thể bệnh HbH thể mất đoạn hoặc thể không mất đoạn và các dạng người mang gen bệnh α^0 hoặc α^+ -thalassemia.
- Cần có những nghiên cứu tiếp theo để theo dõi và đánh giá về mối tương quan giữa kiểu hình và các kiểu gen của bệnh HbH với cỡ mẫu lớn hơn, trong thời gian dài hơn, để đưa ra tiên lượng dựa trên thể bệnh, theo dõi điều trị bệnh, và là cơ sở tư vấn di truyền và chẩn đoán trước sinh.
- Cần được chẩn đoán xác định người mang gen bằng phân tích gen α globin, tiến đến tư vấn di truyền và chẩn đoán trước sinh, đặc biệt cho những trường hợp có nguy cơ sinh con mắc α -thalassemia thể nặng.

ĐÓNG GÓP MỚI

Nghiên cứu toàn diện và hệ thống về bệnh α -thalassemia:

- Từ việc áp dụng thành công kỹ thuật PCR, MLPA, giải trình tự gen Sanger, các bệnh nhân nghi ngờ mắc α -thalassemia đã được chẩn đoán xác định bệnh và thể bệnh.
- Phân tích mối liên quan giữa đặc điểm lâm sàng và kiểu gen của bệnh nhân mắc HbH giúp hiểu rõ hơn về tính chất đa dạng và phức tạp của bệnh, từ đó giúp chẩn đoán sớm, tiên lượng bệnh, điều trị phù hợp nhằm giảm bớt biến chứng.
- Sàng lọc, chẩn đoán xác định người mang gen bệnh, tư vấn di truyền và chẩn đoán trước sinh cho các gia đình nguy cơ cao sinh con mắc bệnh α -thalassemia thể nặng, giúp phòng bệnh hiệu quả.
- Nghiên cứu đã phát hiện các đột biến thường gặp, và đã công bố các đột biến hiếm gặp, làm phong phú hơn những hiểu biết về các đột biến gây bệnh trên bệnh nhân α -thalassemia Việt Nam.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Diem Ngoc Ngo, Thi Thanh Ha Ly, Thi Tuyen Nhung Ngo, Thi Phuong Mai Nguyen, Thi Hong Ha Tran, Ba Truc Duong, Danh Cuong Tran, Thi Thanh Thuy Le, Thanh Hai Le, Thi Thanh Huong Tran (2015). Carrier screening and prenatal diagnosis for α - and β -thalassemia in pregnancies at risk in National Hospital of Pediatrics, Vietnam, *Ann Transl Med* 2015; 3(S2):AB123.
2. Ngô Diễm Ngọc, Lý Thị Thanh Hà, Ngô Thị Tuyết Nhung, Nguyễn Thị Phương Mai, Dương Bá Trục, Trần Hồng Hà, An Thuỳ Lan, Trần Danh Cường, Lê Thị Thanh Thuý, Trần Thị Thanh Hương, Lê Thanh Hải (2015). Sàng lọc và chẩn đoán trước sinh bệnh Alpha và Beta Thalassemia trên các thai phụ nguy cơ cao tại Bệnh viện Nhi Trung Ương, *Tạp chí Y học Việt Nam*, tháng 9 tập 434 số đặc biệt (2015) 83-92.
3. Ngô Diễm Ngọc, Lý Thị Thanh Hà, Ngô Thị Tuyết Nhung, Nguyễn Thị Phương Mai, Dương Bá Trục, Trần Hồng Hà, An Thuỳ Lan, Trần Danh Cường, Lê Thị Thanh Thuý, Trần Thị Thanh Hương, Lê Thanh Hải (2015). Chẩn đoán trước sinh bệnh HbH và phù thai do Hb Bart' s tại Bệnh viện Nhi Trung Ương. *Tạp chí Y học Việt Nam*, tháng 9 tập 434 số đặc biệt (2015) 115-120.
4. Ngô Diễm Ngọc, Lý Thị Thanh Hà, Ngô Thị Tuyết Nhung, Trần Danh Cường, Trần Thị Thanh Hương (2014). Chẩn đoán trước sinh bệnh α Thalassemia. *Tạp Chí Nghiên Cứu Y Học*, 89 (4), 8-14.
5. Ngô Diễm Ngọc, Lý Thị Thanh Hà, Dương Bá Trục, Bùi Văn Viên, Trần Thị Thanh Hương (2013). Ứng dụng kỹ thuật sinh học phân tử trong phát hiện đột biến gen α globin của bệnh α thalassemia. *Tạp Chí Nghiên Cứu Y Học*, 81 (1), 14-18.
6. Ngô Diễm Ngọc, Lý Thị Thanh Hà, Ngô Thị Tuyết Nhung, Nguyễn Thị Phương Mai, Trần Danh Cường, Nguyễn Thị Tân Sinh, Trần Hồng Hà, Dương Bá Trục, Trần Thị Thanh Hương, Nguyễn Thanh Liêm (2013). Phòng bệnh phù thai do Hemoglobin Bart's: Sàng lọc người mẹ mang thai, phát hiện người mang gen bệnh và chẩn đoán trước sinh. *Tạp Chí Phụ Sản*, 11(02), 23-26.

7. Ngô Diễm Ngọc, Lý Thị Thanh Hà, Ngô Thị Tuyết Nhung, Nguyễn Thị Phương Mai, Trần Danh Cường, Nguyễn Thị Tân Sinh, Trần Hồng Hà, Dương Bá Trực, Trần Thị Thanh Hương, Nguyễn Thanh Liêm (2012). Hội chứng phù thai do Hemoglobin Bart's: Sàng lọc người mang gen và chẩn đoán trước sinh. *Tạp Chí Y Học Việt Nam*, 397(9), 159-165.
8. Dương Bá Trực, Ngô Diễm Ngọc, Trần Thị Hồng Hà (2012). Một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh HbH do đột biến $--^{SEA}/-\alpha^{HbCs}$ trên gen α globin. *Tạp Chí Y Học Việt Nam*, 397(9), 159-165.