

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



NGUYỄN HOÀNG NAM

**NGHIÊN CỨU KIỂU HÌNH VÀ KIỂU GEN
Ở BỆNH NHI BETA-THALASSEMIA**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - 2019

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI

NGUYỄN HOÀNG NAM

**NGHIÊN CỨU KIỂU HÌNH VÀ KIỂU GEN
Ở BỆNH NHI BETA-THALASSEMIA**

Ngành: Nhi khoa

Mã số: 62720135

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS BÙI VĂN VIÊN

2. TS. DƯƠNG BÁ TRỰC

HÀ NỘI - 2019

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Nguyễn Hoàng Nam, nghiên cứu sinh khóa 30 Trường Đại học Y Hà Nội, chuyên ngành Nhi, xin cam đoan:

1. Đây là luận án do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của Thầy Bùi Văn Viên và thầy Dương Bá Trục

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 hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nơi nghiên cứu

Tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật về những cam kết này.

Hà Nội, ngày 28 tháng 02 năm 2019

Người viết cam đoan

LỜI CẢM ƠN

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến PGS.TS. Bùi Văn Viên và TS. Dương Bá Trực đã tận tình hướng dẫn, giúp đỡ để tôi hoàn thành luận án này.

Tôi xin chân thành cảm ơn Đảng ủy, Ban Giám đốc Bệnh viện Nhi trung ương, tập thể Khoa huyết học lâm sàng, Khoa huyết học xét nghiệm, Khoa di truyền và sinh học phân tử đã tạo điều kiện giúp đỡ tôi trong quá trình thực hiện nghiên cứu.

Tôi xin chân thành cảm ơn Ban Giám hiệu, Khoa Sau đại học trường Đại học Y Hà Nội đã giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Tôi xin chân thành cảm ơn các thầy cô Bộ môn Nhi, Đại học Y Hà Nội đã giúp đỡ tôi trong quá trình thực hiện đề tài luận án.

Tôi cũng xin chân thành cảm ơn GS.TS Nguyễn Công Khanh, người thầy người cha kính yêu đã giúp đỡ và động viên tôi rất nhiều trong quá trình làm luận án.

Tôi cũng xin chân thành cảm ơn Người Mẹ kính yêu đã yêu thương và động viên tôi rất nhiều.

Tôi cũng xin chân thành cảm ơn người Vợ yêu quý và hai Con luôn sát cánh bên tôi.

Tôi xin gửi lời cảm ơn đến các bạn bè, đồng nghiệp đã luôn động viên, hỗ trợ để tôi hoàn thành tốt nhiệm vụ học tập của mình.

Tôi xin cảm ơn gia đình bệnh nhi và các cháu bệnh nhi đã cộng tác để tôi hoàn thành nghiên cứu. Chúc các Cháu bệnh nhi nhanh hồi phục sức khỏe

Tác giả

Nguyễn Hoàng Nam

MỤC LỤC

Trang

Lời cam đoan	
Lời cảm ơn	
Danh mục các bảng	
Danh mục các biểu đồ, sơ đồ, hình vẽ	
ĐẶT VẤN ĐỀ	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU	4
1.1. Dịch tễ học β-thalassemia	4
1.1.1. Phân bố bệnh β -thalassemia trên thế giới.....	4
1.1.2. β -thalassemia ở Việt Nam.....	5
1.2. Cơ sở di truyền β-thalassemia	7
1.2.1. Hemoglobin bình thường.....	7
1.2.2. Các gen mã hóa tổng hợp globin của hemoglobin.....	8
1.2.3. Đột biến gen gây bệnh β -thalassemia.....	11
1.2.4. Tần số đột biến gen gây bệnh β -thalassemia ở Việt Nam.....	16
1.3. Lâm sàng huyết học bệnh β-thalassemia	17
1.3.1. Phân loại bệnh β -thalassemia.....	17
1.3.2. Phân loại mới về thalassemia.....	17
1.3.3. Mang bệnh tiềm ẩn (Silent Carrier).....	18
1.3.4. β -thalassemia nhẹ (β -thalassemia Trait).....	18
1.3.5. β -thalassemia nặng (β -thalassemia major).....	20
1.3.6. β -thalassemia trung gian (β -thalassemia intermedia).....	24
1.4. Liên quan giữa kiểu gen – kiểu hình β-thalassemia	26
1.4.1. Phân loại lâm sàng theo kiểu gen β -thalassemia.....	26
1.4.2. Liên quan giữa kiểu gen – kiểu hình β -thalassemia ẩn.....	27
1.4.3. Liên quan giữa kiểu gen - kiểu hình β -thalassemia nhẹ (β -thalassemia trait).....	29
1.4.4. Liên quan giữa kiểu gen-kiểu hình β -thalassemia thể nặng (β -thalassemia major).....	31

1.4.5. Liên quan giữa kiểu gen-kiểu hình β -thalassemia thể trung gian (β -thalassemia intermedia)	34
1.5. Khái quát về điều trị và dự phòng β-thalassemia	35
1.5.1. Điều trị	35
1.5.2. Dự phòng thalassemia	38
CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	40
2.1. Đối tượng nghiên cứu	40
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu	40
2.1.2. Tiêu chuẩn chẩn đoán	40
2.1.3. Tiêu chuẩn loại trừ khỏi nghiên cứu.....	40
2.1.4. Cỡ mẫu cần nghiên cứu.....	40
2.2. Phương pháp nghiên cứu	41
2.2.1. Phương pháp nghiên cứu chung	41
2.2.2. Phương pháp lâm sàng	41
2.2.3. Xét nghiệm huyết học	41
2.2.4. Xét nghiệm hóa sinh	41
2.2.5. Phát hiện và phân tích đột biến gen β -globin.....	41
2.2.6. Nội dung nghiên cứu và tiêu chuẩn đánh giá.....	44
2.2.7. Phương pháp thu thập số liệu	49
2.2.8. Phương pháp xử lý số liệu.....	49
2.2.9. Thiết kế nghiên cứu	50
2.3. Đạo đức nghiên cứu	51
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	52
3.1. Kiểu hình lâm sàng, huyết học β- Thalassemia	52
3.1.1. Một số đặc điểm dịch tễ học lâm sàng.....	52
3.1.2. Đặc điểm kiểu hình lâm sàng bệnh nhân β -thalassemia.....	54
3.1.3. Cận lâm sàng	59
3.2. Kiểu gen ở bệnh nhi β-thalassemia	66
3.2.1. Các đột biến gen <i>HBB</i> phát hiện ở bệnh nhân β -thalassemia	66

3.2.2. Phân bố đột biến gen theo vị trí và chức năng gen	67
3.2.3. Phân bố đột biến gen <i>HBB</i> theo kiểu gen	69
3.2.4. Phân bố đột biến gen β -thalassemia theo dân tộc	71
3.3. Đối chiếu kiểu gen-kiểu hình β- Thalassemia	73
3.3.1. Đối chiếu giữa kiểu gen- kiểu hình lâm sàng theo mức độ bệnh...	73
3.3.2. Đối chiếu kiểu gen với chỉ số huyết học thể nặng và trung gian...	78
CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN	80
4.1. Kiểu hình lâm sàng, huyết học β- Thalassemia	80
4.1.1. Một số đặc điểm về dịch tễ lâm sàng.....	80
4.1.2. Đặc điểm về kiểu hình lâm sàng β – thalassemia	83
4.1.3. Đặc điểm về kiểu hình huyết học	87
4.2. Đột biến gen β -Globin ở bệnh nhân β -Thalassemia	90
4.2.1. Các đột biến gen <i>HBB</i> phát hiện	90
4.2.2. Phân bố đột biến gen β - globin ở bệnh nhân β - thalassemia theo vị trí và chức năng gen 99	
4.2.3. Phân bố theo kiểu gen	100
4.2.4. Phân bố đột biến gen β -thalassemia theo dân tộc	101
4.3. Đối chiếu kiểu gen-kiểu hình β -Thalassemia	102
4.3.1. Đối chiếu giữa kiểu gen với lâm sàng β -thalassemia.....	102
4.3.2. Đối chiếu giữa kiểu gen với huyết học	106
KẾT LUẬN	109
DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO	
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU ĐÃ CÔNG BỐ	
CỦA TÁC GIẢ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN	
PHỤ LỤC	

CÁC CHỮ VIẾT TẮT

α :	Alpha
β :	Beta
δ :	Delta
γ :	Gamma
ξ :	Zeta
A:	Adenosine
T:	Thymidine
G:	Guanosine
C:	Cytidine
β^0 :	Không tổng hợp chuỗi Beta
β^+ :	Giảm tổng hợp chuỗi Beta
β^{++} :	Giảm nhẹ tổng hợp chuỗi Beta
β^E :	HbE
ARMS-PCR:	Amplification Refractory Mutation System – Polymerase Chain Reaction (Hệ thống khuếch đại đột biến trở – Phản ứng chuỗi polymerase)
DNA:	Desoxyribonucleic acid
ĐB:	Đột biến
FSH:	Follicle Stimulating Hormone (Hóc môn kích thích foliculin)
GAP-PCR:	GAP – Polymerase Chain Reaction (Phản ứng chuỗi polymerase cách đoạn)
Hb:	Hemoglobin
HLA:	Human Leukocyte Antigene (Kháng nguyên bạch cầu người)
HPFH:	Hereditary Persistence Fetal Hemoglobine (Tồn tại di truyền Hb bào thai)
HPLC:	High Performance Liquid Chromatography (Sắc Ký lỏng cao áp)
LH:	Lutein Hormone (Hóc môn lutein)
MCH:	HbTBHC (Hemoglobin trung bình hồng cầu)

MCHC:	NĐHbTBHC (Nồng độ Hb trung bình hồng cầu)
MCV:	TTTBHC (Thể tích trung bình hồng cầu)
RNA:	Ribonucleic acid
IVS:	Trình tự chèn Intron
mRNA:	message Ribonucleic acid (RNA thông tin)
RDW:	Red cell Distribution Width (DPBHC – Dải phân bố kích thước hồng cầu)
3'UTR:	3' Untranscriptional Region (Vùng 3' không sao mã)
5'UTR:	5' Untranscriptional Region (Vùng 5' không sao mã)

DANH MỤC CÁC BẢNG

Trang

Bảng 1.1.	Tần số mang gen bệnh β thalassemia và HbE ở Việt Nam	6
Bảng 1.2.	Cấu trúc globin và thời kỳ xuất hiện các hemoglobin sinh lý	7
Bảng 1.3.	Thành phần hemoglobin bình thường	11
Bảng 1.4.	Phân loại một số dạng đột biến β -thalassemia phổ biến	14
Bảng 1.5.	Tần số đột biến gen β -thalassemia ở Việt Nam	16
Bảng 1.6.	Phân loại lâm sàng β -thalassemia.....	17
Bảng 1.7.	Phân biệt β -thalassemia nặng và trung gian.....	25
Bảng 1.8.	Phân loại lâm sàng β -thalassemia theo kiểu gen	26
Bảng 1.9.	Các đột biến β -thalassemia tạo ra thể ẩn và thể nhẹ	28
Bảng 1.10.	Cơ chế phân tử của β -thalassemia trung gian	34
Bảng 2.1.	Phân loại lâm sàng thalassemia.....	46
Bảng 2.2.	Thang điểm phân loại β -thalassemia trung gian	47
Bảng 3.1.	Tuổi và giới bệnh nhân nghiên cứu	52
Bảng 3.2.	Phân bố bệnh nhân nghiên cứu theo dân tộc.....	53
Bảng 3.3.	Lý do bệnh nhân vào viện	54
Bảng 3.4.	Tuổi phát hiện bệnh đầu tiên.....	54
Bảng 3.5.	Triệu chứng lâm sàng khi vào viện	55
Bảng 3.6.	Sự tăng trưởng thể chất của trẻ β – thalassemia.....	56
Bảng 3.7.	Tuổi bắt đầu phải truyền máu ở bệnh nhân β -thalassemia	56
Bảng 3.8.	Số lần truyền máu/năm ở bệnh nhân β -thalassemia.....	57
Bảng 3.9.	Phân loại mức độ bệnh β -thalassemia nghiên cứu	57
Bảng 3.10.	Phân loại mức độ bệnh β – thalassemia trung gian.....	58
Bảng 3.11.	Số lượng tế bào máu ngoại biên.....	59
Bảng 3.12.	Lượng Hemoglobin và hematocrit ở bệnh nhân β – thalassemia nghiên cứu	60
Bảng 3.13.	Mức độ thiếu máu ở bệnh nhân β – thalassemia trong nghiên cứu.....	61
Bảng 3.14.	Các chỉ số về hồng cầu bệnh nhi β -thalassemia nghiên cứu.	62
Bảng 3.15.	Thành phần hemoglobin ở các thể β -thalassemia	63
Bảng 3.16.	Một số chỉ số về chuyển hóa sắt ở bệnh nhân β -thalassemia	64
Bảng 3.17.	Một số chỉ số hóa sinh về gan, thận ở bệnh nhân β – thalassemia	65
Bảng 3.18.	Các đột biến gen <i>HBB</i> ở bệnh nhân β -thalassemia	66

Bảng 3.19. Phân bố các đột biến gen <i>HBB</i> ở bệnh nhân β -thalassemia theo chức năng gen.	68
Bảng 3.20. Phân bố đột biến gen <i>HBB</i> theo kiểu gen ở bệnh nhân β -thalassemia	69
Bảng 3.21. Phân bố đột biến gen <i>HBB</i> ở bệnh nhân β -thalassemia theo các dân tộc	71
Bảng 3.22. So sánh một số đột biến phổ biến giữa dân tộc Kinh với dân tộc Tày	72
Bảng 3.23. So sánh đột biến phổ biến giữa dân tộc Kinh và dân tộc Thái.....	72
Bảng 3.24. So sánh đột biến gen phổ biến giữa dân tộc Tày và dân tộc Thái.....	73
Bảng 3.25. Đối chiếu các đột biến gen <i>HBB</i> với thể lâm sàng β -thalassemia và β -thalassemia/HbE	74
Bảng 3.26. Đối chiếu giữa đột biến gen <i>HBB</i> với thể bệnh theo mức độ nặng về lâm sàng	75
Bảng 3.27. Đối chiếu các kiểu gen phối hợp đột biến với mức độ bệnh	76
Bảng 3.28. Đối chiếu kiểu gen với kiểu hình lâm sàng thể nặng và trung gian	77
Bảng 3.29. Đối chiếu kiểu gen <i>HBB</i> với một số chỉ số hồng cầu thể nặng và trung gian	78
Bảng 3.30. Đối chiếu kiểu gen với thành phần hemoglobin thể nặng và trung gian.....	79
Bảng 4.1. So sánh một số biểu hiện lâm sàng của β -thalassemia và β -thalassemia/HbE	86
Bảng 4.2. Tần số các đột biến gen <i>HBB</i> ở bệnh β -thalassemia tại Việt Nam.....	92
Bảng 4.3. Các đột biến mất đoạn ở β -thalassemia	94
Bảng 4.4. Tần số đột biến gen β -globin ở một số nước Châu Á	95
Bảng 4.5. Các đột biến β -thalassemia phổ biến ở một số nước Châu Âu, Địa Trung Hải	97

DANH MỤC CÁC SƠ ĐỒ, HÌNH VẼ

Trang

Sơ đồ 2.1. Sơ đồ quy trình phát hiện đột biến gen β -globin.....	44
Sơ đồ 2.2. Sơ đồ thiết kế nghiên cứu.....	50
Hình 1.1. Phân bố bệnh hemoglobin trên thế giới.....	4
Hình 1.2. Phân bố β -thalassemia và HbE ở các nước Đông Nam Á.....	5
Hình 1.3. Sự sắp xếp gen globin trên nhiễm sắc thể và các thành phần hemoglobin ở các thời kỳ phát triển.....	8
Hình 1.4. Diễn biến sinh tổng hợp thành phần globin của hemoglobin và vị trí sinh hồng cầu trong quá trình phát triển.....	10
Hình 1.5. Vị trí các lớp đột biến điểm gây β thalassemia với các yếu tố cấu trúc quan trọng có trong gen <i>HBB</i>	13
Hình 1.6. Hình thái hồng cầu máu ngoại biên β -thalassemia nhẹ	19
Hình 1.7. Bệnh sinh β -thalassemia nặng.....	21
Hình 1.8. Gan to, lách to ở bệnh nhân β -thalassemia nặng.....	22
Hình 1.9. Bộ mặt thalassemia	22
Hình 1.10. Xương sọ, hình chân tóc	22
Hình 1.11. Hình ảnh máu ngoại biên β -thalassemia nặng	24
Hình 2.1. Sản phẩm DNA điện di trên gel agarose	43
Hình 3.1. Phân bố đột biến gen β – globin theo vị trí.....	67
Hình 4.1. Phân bố tuổi thalassemia	81
Hình 4.2. Tỷ lệ sống còn của bệnh nhân β – thalassemia	88

ĐẶT VẤN ĐỀ

Thalassemia là một nhóm bệnh thiếu máu tan máu bẩm sinh do đột biến gen globin gây nên thiếu hụt tổng hợp một hay nhiều mạch polypeptid trong globin của hemoglobin. Tùy theo sự thiếu hụt tổng hợp ở mạch alpha, beta, hay vừa ở mạch delta và beta, mà gọi là α -thalassemia, β -thalassemia hay δ - β -thalassemia. Như vậy β -thalassemia là bệnh di truyền do giảm hay không tổng hợp được mạch globin β trong globin của hemoglobin.

Gen bệnh β -thalassemia phân bố rất rộng trên thế giới, từ vùng bờ Địa Trung Hải, qua khu vực Trung Đông, tới Đông Nam Châu Á và Bắc Phi. Beta-thalassemia là bệnh di truyền đơn gen phổ biến nhất trên thế giới. Tại Việt Nam, các công trình nghiên cứu cho tới nay đều thống nhất, bệnh hemoglobin phổ biến là α -thalassemia, β -thalassemia và hemoglobin E. Tổng hợp theo nhiều nghiên cứu có thể coi β -thalassemia là bệnh di truyền phổ biến nhất ở Việt Nam [1].

β -thalassemia là bệnh di truyền theo quy luật alen lặn, nhiễm sắc thể thường. Gen bệnh chủ yếu được truyền từ bố, mẹ cho con, những bệnh nhân bị bệnh do đột biến mới phát sinh qua quá trình tạo giao tử ở bố hay mẹ đi vào thể hệ con là rất cá biệt. Sự biểu hiện ở thể hệ con phụ thuộc vào kiểu gen, mức độ đột biến gen mà có những thể bệnh khác nhau [2].

Lâm sàng bệnh β -thalassemia rất không đồng nhất, đa dạng, từ thể nhẹ nhất không có biểu hiện lâm sàng, chỉ phát hiện được khi nghiên cứu sinh học phân tử, đến thể nặng phải phụ thuộc vào truyền máu. Mức độ nặng về lâm sàng của bệnh β -thalassemia liên quan tới sự mất cân bằng giữa mạch globin alpha và β , liên quan với đặc điểm tính chất đột biến gen β -globin.

Về huyết học có sự biến đổi rất lớn ở hồng cầu, ở hemoglobin, sinh hồng cầu ở tủy, cũng thay đổi từ nhẹ đến rất nặng, khá đặc hiệu cho từng thể bệnh.

Về điều trị, đối với thể nhẹ không cần điều trị nhiều, song với thể bệnh nặng, điều trị rất khó khăn, tốn kém. Do đó giải pháp tốt nhất với β -thalassemia là dự phòng, tư vấn di truyền để không sinh ra thế hệ bị thể bệnh nặng [2].

Nghiên cứu về cơ sở di truyền bệnh β -thalassemia là mấu chốt cho sự hiểu biết về đặc điểm lâm sàng, huyết học và là cơ sở khoa học cho việc điều trị, tiên lượng dự phòng, chẩn đoán trước sinh, tư vấn di truyền bệnh. Do đó nghiên cứu phát hiện đột biến gen β -globin (*HBB*) được nhiều nước có β -thalassemia phổ biến rất chú ý. Cho đến nay đã có trên 200 loại đột biến gen β -thalassemia được Liên đoàn Thalassemia quốc tế công bố năm 2005. Phân bố các dạng đột biến khác nhau tùy từng khu vực, quốc gia và dân tộc [2].

Ở Việt Nam, đã có nhiều nghiên cứu về β -thalassemia và các bệnh hemoglobin khác, song chủ yếu là nghiên cứu về dịch tễ học ở một số khu vực, địa phương, lâm sàng, huyết học [3][4] [5] [6] [7]. Nghiên cứu về đột biến gen *HBB* gây β -thalassemia ở người Việt Nam còn ít, và chưa đầy đủ. Phân tích đột biến gen β -thalassemia ở người Việt Nam đầu tiên do Dương Bá Trục và cộng sự được thực hiện tại phòng xét nghiệm ở Israel năm 2000 [8]. Tiếp theo sau, ngay từ 2001 và những năm tiếp theo có một số nghiên cứu về đột biến gen gây bệnh β -thalassemia ở người miền Nam và Bắc Việt Nam, được thực hiện ở Việt Nam [9][10] [11] [12]. Các nghiên cứu này chỉ tập trung nghiên cứu phát hiện các loại đột biến gen thấy ở bệnh nhân β -thalassemia ở người Việt Nam. Chúng tôi thấy cần có nghiên cứu về mối liên quan giữa đột biến gen với lâm sàng, huyết học ở các thể bệnh, nhất là thể nặng và trung gian của bệnh nhân β -thalassemia Việt Nam. Xuất phát từ đó, chúng tôi nghiên cứu đề tài: ***“Nghiên cứu kiểu hình và kiểu gen ở bệnh nhi β -Thalassmia”***.

Mục tiêu nghiên cứu:

- 1. Mô tả kiểu hình lâm sàng, huyết học của bệnh nhi mắc β -thalassemia tại Bệnh viện Nhi trung ương;**
- 2. Xác định đột biến gen β -thalassemia ở trẻ bệnh;**
- 3. Đối chiếu kiểu hình và kiểu gen của trẻ mắc β -thalassemia thể nặng và trung gian tại Bệnh viện nhi trung ương.**

Chúng tôi hy vọng, kết quả nghiên cứu thu được sẽ góp phần hiểu biết thêm về lâm sàng, huyết học và sự liên quan giữa kiểu hình với kiểu gen β -thalassemia và là cơ sở khoa học cho việc điều trị, tiên lượng bệnh, chẩn đoán trước sinh, dự phòng sinh ra các thể bệnh nặng và trung gian của β -thalassemia ở Việt Nam.

CHƯƠNG 1

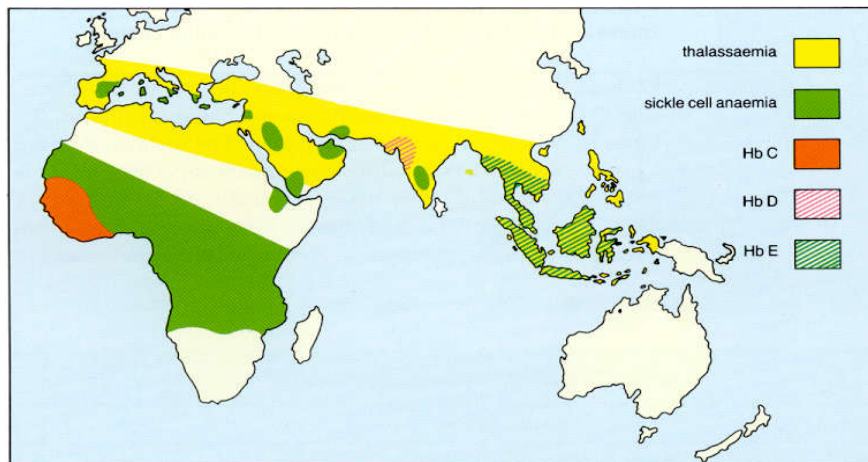
TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Dịch tễ học β -thalassemia

1.1.1. Phân bố bệnh β -thalassemia trên thế giới

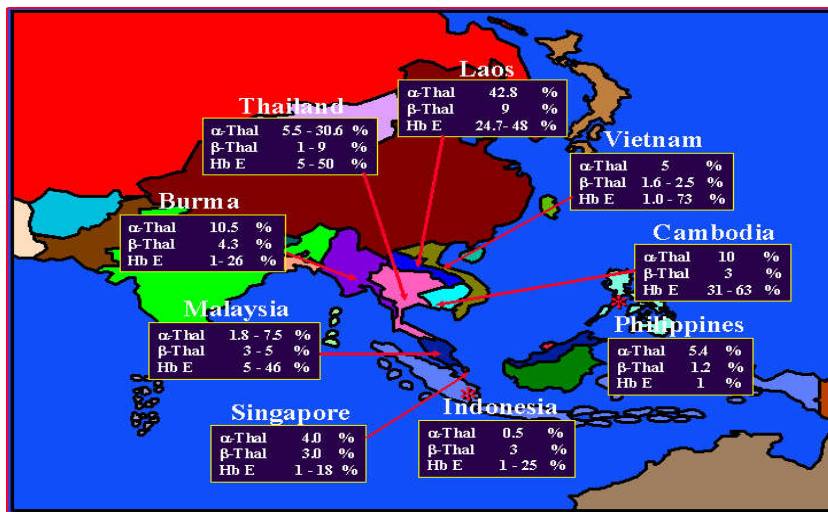
β -thalassemia là loại bệnh di truyền liên quan chặt chẽ với nguồn gốc dân tộc, phân bố khắp toàn cầu, song mang tính chất địa dư rõ rệt, số người mang gen bệnh trên thế giới rất lớn [13].

Những trường hợp thalassemia phát hiện đầu tiên năm 1925 là β -thalassemia ở bờ Địa Trung Hải, là người có nguồn gốc Hy Lạp và Italia. Sau đó bệnh đã được phát hiện ở rất nhiều nước trên thế giới. Gen bệnh β -thalassemia phân bố rất rộng trên thế giới, từ vùng Địa Trung Hải, qua khu vực Trung Đông, tới Đông Nam Châu Á và Bắc Phi. Theo Liên đoàn Thalassemia quốc tế (2005) ước tính có 1,5% dân số thế giới mang gen β -thalassemia, ít nhất có từ 80-90 triệu người mang gen bệnh, và cứ mỗi năm có tới 60.000 trường hợp mới sinh mang gen bệnh. Toàn Châu Á có trên 60 triệu người mang gen β -thalassemia. Riêng khu vực Đông Nam Châu Á trong đó có Việt Nam, ước tính số người mang gen β -thalassemia chiếm tới 50% người mang gen toàn cầu, khoảng 40 triệu người. Còn ở các nước phát triển, Châu Âu và Châu Mỹ, ước tính người mang gen β -thalassemia chỉ chiếm 10-13% người mang gen trên thế giới [2][14].



Hình 1.1. Phân bố bệnh hemoglobin trên thế giới (Theo Galanello, et al)[2]

Tần số mang gen β -thalassemia rất cao ở nhiều nước ở bờ Địa Trung Hải, Châu Âu, như ở Cyprus là 10%, Hy Lạp là 8%, Albania là 8%, Italia là 4,8%. Ở Châu Mỹ, tỷ lệ mang gen β -thalassemia ở Guyana tới 10% dân số. Ở khu vực Châu Á tần số mang gen β -thalassemia ở Ấn Độ từ 3-17% dân số, ở Lào là 9,6%, ở Thái Lan từ 3-9%, ở Indonesia là 4% [15] [16] [17].



Hình 1.2. Phân bố β -thalassemia và HbE ở các nước Đông Nam Á
(Theo Fucharoen, et al)[17]

Do gen β -thalassemia phân bố rất rộng rãi trên toàn cầu, đồng thời cùng với việc lưu hành nhiều bệnh hemoglobin khác như HbE, HbS do đó hàng năm sinh ra một số lớn trẻ bị thể đồng hợp tử β -thalassemia cũng như thể dị hợp tử kép, phối hợp với một hemoglobin bệnh khác như HbE/ β -thalassemia, HbS/ β -thalassemia. Đây là những thể bệnh nặng của β -thalassemia, đòi hỏi phải điều trị suốt đời, số đông phải phụ thuộc vào truyền máu [1] [18].

1.1.2. β -thalassemia ở Việt Nam

Bệnh hemoglobin nói chung và thalassemia nói riêng đã được chú ý khá sớm ở Việt Nam. Những nghiên cứu ban đầu từ thập kỷ 70, 80 và 90 ở thế kỷ XX, đều hướng về nghiên cứu dịch tễ học và lâm sàng. Tiếp theo những năm gần đây đã có một số nghiên cứu tiếp về điều trị, về đột biến gen thalassemia. Các nghiên

cứu cho đến nay ở Việt Nam đều thống nhất bệnh hemoglobin khá phổ biến, phổ biến là α -thalasemia, β -thalassemia và HbE. Bệnh phát hiện thấy ở tất cả các tỉnh thành trong cả nước, ở nhiều dân tộc khác nhau [4]. Bệnh phổ biến nhiều hơn ở dân tộc ít người, ở các tỉnh miền núi và cao nguyên, so với người Kinh và vùng đồng bằng [5]. β -thalassemia phổ biến ở người dân tộc ít người miền Bắc hơn. Hemoglobin E phổ biến ở miền Trung và miền Nam hơn [6] [7]. Ở Việt Nam, β^0 -thalassemia phổ biến hơn β^+ -thalassemia [4].

Bảng 1.1. Tần số mang gen bệnh β thalassemia và HbE ở Việt Nam [1]

Địa phương - Dân tộc	Tần số lưu hành		Tác giả
	% β -thalassemia	% HbE	
MIỀN BẮC			
Kinh (Hà Nội)	1,49	1,24	Khanh NC. và cs 1985
Kinh (Đồng bằng)	1,17	0,98	Tuyên BQ. và cs 1985
Dân tộc ít người	12,4	2,3	Khanh NC. và cs 1987
Tày	11,0	1,0	Khanh NC. và cs 1987
Mường	20,6	12,3	Viên BV. và cs 1988
Nùng	7,1		Khanh NC. và cs 1987
Thái	11,4	20,03	Cầm ĐTM. và cs 2000
MIỀN TRUNG			
Kinh	2,55		Chát LX. và cs 1968
Kinh		4,6	Tuyên BQ. và cs 1985
Pako	8,33	6,14	Tuyên BQ. và cs 1985
Vân Kiều	2,56	23,0	Tuyên BQ. và cs 1985
Êđê	1,0	41,0	Trúc DB. và cs 1989
Sêđăng		5,8	Bowman JE, 1971
Khmer		36,8	Bowman JE, 1971
Rhade		38,6	Bowman JE, 1971
MIỀN NAM			
Kinh	1,7	8,9	Detraverso và cs 1960
	0,45	3,16	Chát LX. và cs 1968
Kinh (Saigon)		3,2	Blackwell và cs 1965
S tiêng		55,9	Bowman JE, 1971
Chăm		29,1	Bowman JE, 1971

1.2. Cơ sở di truyền bệnh β -thalassemia

1.2.1. Hemoglobin bình thường

Hemoglobin (Hb) có trọng lượng phân tử 4.400 Dalton, gồm hai thành phần, nhóm ngoại gọi là hem và phần protein là globin. Ngoài ra trong phân tử Hb còn có 2,3 diphosphoglycerat có tác động tới ái lực của Hb đối với Oxy.

Hem là protoporphyrin gắn với nguyên tử Fe^{++} ở trung tâm. Nguyên tử Fe^{++} có 6 liên kết; 4 liên kết với 4 N của nhân pyrol của hem, và 2 liên kết nối với imidazol và histidin của globin.

Globin gồm 4 mạch polypeptid, 2 mạch loại α , 2 mạch loại β , liên kết với nhau bởi những tương tác đồng hóa trị. Mỗi mạch polypeptid nối với một hem, nên một phân tử Hb có thể nhận 4 phân tử oxy.

Ở người có 6 loại hemoglobin bình thường, thấy được ở trong hồng cầu ở thời kỳ phôi thai, thai nhi, trẻ em và người lớn. Hemoglobin ở thời kỳ phôi thai là Hb Gower 1, Hb Gower 2 và Hb Portland. Hemoglobin ở thời kỳ thai nhi đến khi trưởng thành là HbA₁, HbA₂ và HbF. Thời gian xuất hiện và thành phần từng loại hemoglobin thay đổi tùy theo từng thời kì [19].

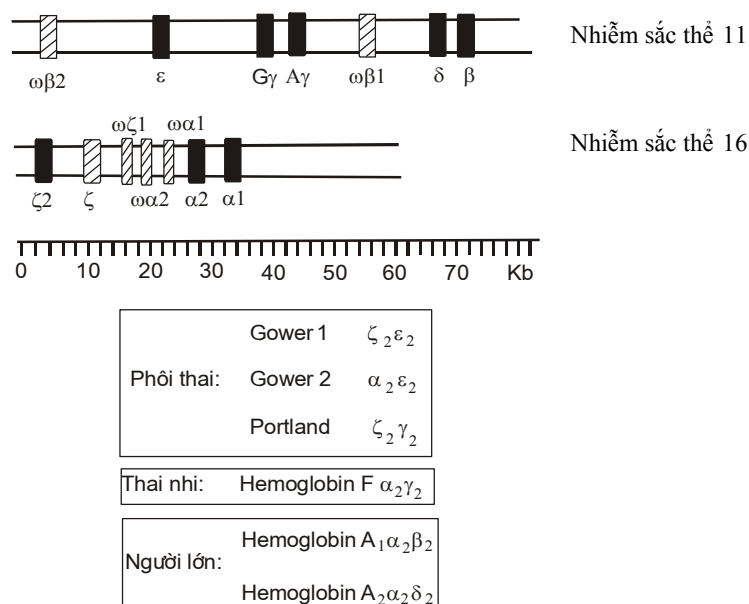
Bảng 1.2. Cấu trúc globin và thời kỳ xuất hiện các hemoglobin sinh lý [19]

Hb sinh lý	Cấu trúc globin	Thời kỳ xuất hiện
Hb Gower 1	$\xi_2\varepsilon_2$	Phôi thai 2-3 tuần, tồn tại 2 tháng đầu của thai
Hb Gower 2	$\alpha_2\varepsilon_2$	Xuất hiện và tồn tại cùng Hb Gower 1
Hb Portland	$\xi_2\gamma_2$	Phôi 2-3 tuần
HbF	$\alpha_2\gamma_2$	Thai nhi 5 tuần, Hb chủ yếu ở thai nhi
HbA ₁	$\alpha_2\beta_2$	Thai nhi 6 tuần, Hb chủ yếu ở người bình thường
HbA ₂	$\alpha_2\delta_2$	Thai nhi lúc gần sinh, Hb ở người bình thường

Như vậy, sau khi sinh, ở người bình thường chỉ còn lại 3 loại hemoglobin, đó là HbA₁, HbA₂, HbF. Hemoglobin chủ yếu, nhiều nhất thấy trong hồng cầu bình thường là HbA₁. Như mô tả ở trên, mỗi globin của hemoglobin có hai loại mạch polypeptid, mạch α và mạch β , phối hợp với nhau thành phân tử có 4 mạch cấu trúc $\alpha_2\beta_2$. Mạch polypeptid α có 141 acid amin, mạch polypeptid β có 146 acid amin. Bên cạnh HbA₁ hồng cầu bình thường còn chứa hai loại hemoglobin có tỉ lệ ít, đó là HbA₂ và HbF, cấu trúc globin tương ứng là $\alpha_2\delta_2$ và $\alpha_2\gamma_1$. Polypeptid δ và γ có cấu trúc gần giống polypeptid β , chỉ khác vài acid amin [20] [21].

1.2.2. Các gen mã hóa tổng hợp globin của hemoglobin

Các gen mã hóa cho sự tổng hợp các thành phần globin của hemoglobin người được sắp xếp thành 2 cụm (cluster). Các gen loại α (α -likegenis) thấy ở trên nhiễm sắc thể 16, còn gen-loại β ở trên nhiễm sắc thể 11 [22] [23]. Các gen globin ở người và các loại globin của hemoglobin ở các thời kì được minh họa trong hình sau.

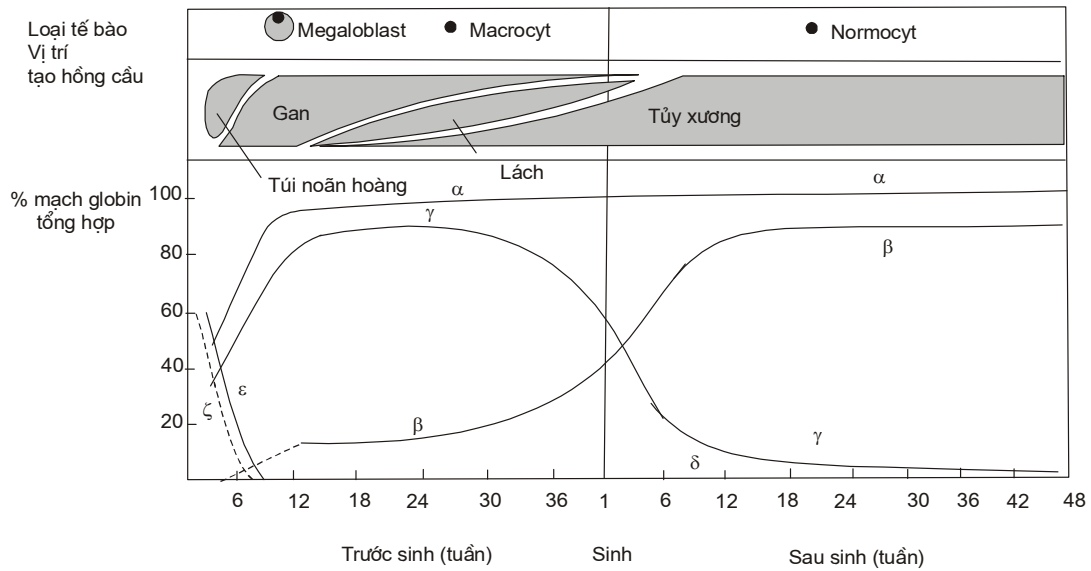


Hình 1.3. Sự sắp xếp gen globin trên nhiễm sắc thể và các thành phần hemoglobin ở các thời kỳ phát triển[1].

Cụm gen globin α gồm 3 gen chức năng. Một trong ba gen đó là gen ξ_2 mã hóa cho mạch ξ , là thành phần của hemoglobin phôi thai Gower 1. Hai gen còn lại là gen đôi α_1 và α_2 mã hóa cho mạch globin α . Phân tích chuỗi DNA còn phát hiện thấy cấu trúc giống gen globin, đó là giả gen (pseudo) ξ (ξ_1), giả gen α_1 và giả gen α_2 không hoạt động. Các giả gen này được cho là tồn dư của gen chức năng trước đây và không cần thiết nữa trong quá trình phát triển [24] [25] [26].

Cụm gen loại globin β gồm 5 gen chức năng. Gen ϵ mã hóa cho globin ϵ có trong hemoglobin phôi thai là Hb Gower 1 và Hb Gower 2. Gen γ mã hóa cho globin γ trong HbF, gen này được nhân đôi, đó là $G\gamma$ và $A\gamma$. Hai gen còn lại trong cụm là gen δ cho globin δ và gen β cho globin β . Ngoài ra, phân tích chuỗi DNA còn thấy có quá trình ức chế mRNA, δ mRNA không ổn định bằng β mRNA. Do đó số lượng mạch globin δ ít hơn, chỉ chiếm 3% các mạch globin của hemoglobin ở hồng cầu trưởng thành. Chỉ có gen globin β là bền vững trong cụm gen ở nhiễm sắc thể 11 [27] [28].

Dựa vào đặc điểm chức năng của các cụm gen mã hóa cho sự tổng hợp các thành phần globin của hemoglobin giải thích sự thay đổi thành phần hemoglobin ở các thời kỳ. Hình sau đây (hình 1.4) trình bày diễn biến tổng hợp các mạch globin trong quá trình phát triển, đồng thời cho thấy các vị trí chính sinh hồng cầu ở các thời kỳ phát triển. Hemoglobin phôi thai được hình thành chủ yếu ở các hồng cầu lớn, biệt hóa ở túi noãn hoàng. Hemoglobin bào thai được sản sinh chủ yếu ở giai đoạn sinh hồng cầu tại gan, và chuyển dịch từ HbF nhiều sang HbA nhiều ở giai đoạn sinh hồng cầu tại gan sang sinh hồng cầu tại tủy xương.



Hình 1.4. Diễn biến sinh tổng hợp thành phần globin của hemoglobin và vị trí sinh hồng cầu trong quá trình phát triển (Theo Weatherall DG và Clegg JB 1981)[14]

Kết quả diễn biến chức năng của các gen mã hóa tổng hợp globin của hemoglobin là sự thay đổi đáng kể thành phần hemoglobin sau khi sinh. Ở thời kỳ thai nhi, hemoglobin chủ yếu là HbF. Khi sinh, HbF có tỷ lệ rất cao, chiếm 60-80% lượng hemoglobin, HbA₁ chỉ có 20-40% lượng hemoglobin, HbA₂ rất ít 0,03-0,06% lượng hemoglobin. Sau thời kỳ sơ sinh, lượng HbF giảm nhanh, từ lúc 1 tuổi đến tuổi trưởng thành, HbF chỉ còn dưới 2% lượng hemoglobin. Ngược lại, HbA₁ là hemoglobin chủ yếu của người trưởng thành, tăng nhanh sau khi sinh, từ 1 tuổi đến tuổi trưởng thành chiếm 97-98% lượng hemoglobin. Còn HbA₂ tăng dần sau khi sinh, nhưng số lượng ít, chỉ từ 1-3% lượng hemoglobin.

*Bảng 1.3. Thành phần hemoglobin bình thường
(Theo Begemann 1975, Kleihauer 1978)[1]*

Lứa tuổi	HbA₁ (%)	HbA₂ (%)	HbF (%)
Sơ sinh	20-40	0,03-0,6	60-80
2 tháng	40-70	0,9-1,6	30-60
4 tháng	80-90	1,8-2,9	10-20
6 tháng	93-97	2,0-3,0	1,0-5,0
1 tuổi-trưởng thành	97	2,0-3,0	0,4-2,0

1.2.3. Đột biến gen gây bệnh β -thalassemia

Bệnh β -thalassemia là hệ quả lâm sàng của đột biến gen β -globin, làm giảm hoặc không tổng hợp mạch β trong globin của hemoglobin. Như đã trình bày ở trên, gen điều hòa sản sinh mạch β nằm ở nhiễm sắc thể 11, trên nhánh ngắn của nhiễm sắc thể, dài 1600 bp, gồm 3 exon và 2 intron. Đột biến gây β -thalassemia là những thay đổi đặc hiệu không đồng nhất ở DNA. Đột biến có thể là những thay đổi ở một base đơn thuần; có thể mất một hay nhiều nucleotid; có thể là đảo đoạn hay tái sắp xếp chuỗi DNA. Do đó, đột biến gen *HBB* có thể ảnh hưởng tới một trong nhiều giai đoạn sản sinh mạch globin. Các đột biến điểm gây β -thalassemia có thể ảnh hưởng tới các bước biểu hiện gen, như tổng hợp RNA, ở giai đoạn phiên mã, hoàn thiện RNA và dịch mã RNA. Những mất đoạn lớn trong cụm β -globin có thể mất hay chuyển một hay nhiều gen, và làm tổn hại tới sự điều hòa của các gen còn lại trong cụm. Các dạng đột biến còn được thể hiện ở mức độ bất hoạt gen tổn thương, đồng thời dẫn tới tăng biểu hiện các gen khác trong cụm xung quanh, kết quả làm thay đổi tỷ lệ tổng hợp các mạch globin, thay đổi thành phần hemoglobin trong các bệnh cảnh lâm sàng khác nhau. Kiểu hình bệnh β -thalassemia phụ thuộc vào sự thay đổi của đột biến [30].

β -thalassemia có thể là kết quả do sự thiếu hụt một trong bất cứ quá trình nào của biểu hiện gen, do một trong các loại đột biến β -thalassemia gây ra [31].

Hiện nay đã phát hiện trên 200 đột biến β -thalassemia, phân bố các loại đột biến khác nhau tùy từng khu vực, quốc gia và dân tộc. Trong đó có khoảng 150 là đột biến điểm, còn lại là mất đoạn ngắn và một số loại hiếm gặp khác. Phần lớn các đột biến đã được mô tả, nhưng trong đó có chỉ khoảng 20 đột biến hay gặp, chiếm 80% các đột biến trên gen β Thalassemia trên thế giới. Bởi vì mỗi vùng có tần suất mang gen β Thalassemia cao thường có 4 – 6 đột biến thường gặp, trong đó khoảng một nửa số đột biến là β^0 Thalassemia [32].

Có thể phân loại các đột biến β -thalassemia thành 3 lớp đột biến chính, ở nhiều vị trí khác nhau [2].

(1) Đột biến phiên mã (Transcriptional mutations)

- Đột biến điểm tại vùng khởi động (promoter)
- Đột biến ở vị trí 5'-UTR (Vùng 5' - không phiên mã)

(2) Đột biến tiến trình hoàn thiện RNA (RNA Processing)

- Vị trí nối (splice junction)
- Vị trí nối đồng thuận (consensus splice site)
- Đột biến ở intron
- Đột biến ở exon
- Vị trí 3'-UTR (Vùng 3' – không phiên mã)

(3) Đột biến dịch mã RNA (RNA Translation)

- Codon khởi đầu (Initiation Codon)
- Codon vô nghĩa (Nonsense Codon)
- Đột biến dịch khung (Frameshift)

Ngoài 3 lớp đột biến trên, các đột biến điểm β -thalassemia còn phân loại ra đột biến mất đoạn (deletion mutation) và đột biến trội (dominant mutation) [33].

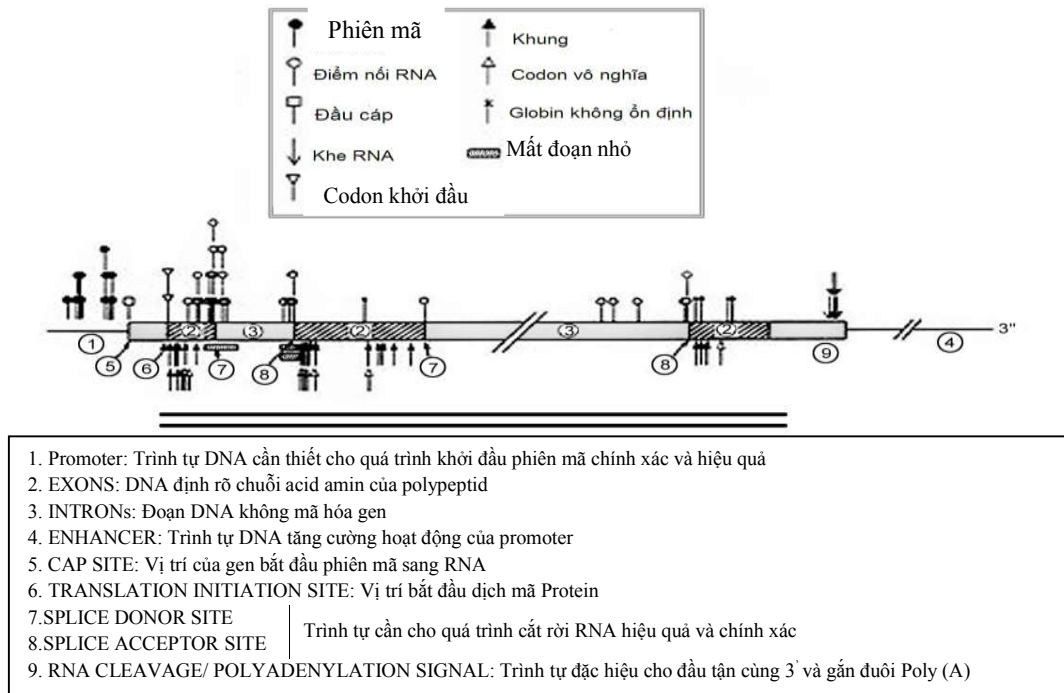
Đột biến phiên mã ảnh hưởng đến trình tự khởi động phiên mã, gây nên giảm tổng hợp mạch β -globin. Kết quả là tổng hợp một phần mạch β -globin tạo ra β^+ -thalassemia [34]. Đột biến tại vùng khởi động làm thay thế nucleotid

tại vị trí hộp TATA hoặc CACCC dẫn đến giảm tổng hợp mạch globin β , mạch β -globin chỉ còn 10% so với bình thường tạo ra.

Những đột biến dịch mã gây ảnh hưởng làm chấm dứt chuỗi gián đoạn β -globin RNA, nên không tổng hợp được mạch β -globin, tạo ra β^0 -thalassemia.

Những đột biến liên quan đến tiến trình hoàn thiện RNA làm ảnh hưởng đến quá trình thông tin mRNA gây biến đổi các nucleotid. Tùy thuộc vào một phần điểm nối còn nguyên vẹn hoặc bị biến đổi hoàn toàn, mà dẫn đến β^+ -thalassemia hay β^0 -thalassemia. Đột biến ở vị trí nối, ở intron hay exon gây β^0 -thalassemia, còn ở vị trí 3'-UTR thường gây ra β^+ -thalassemia [35]

Vị trí của lớp đột biến điểm trên gen *HBB* gây β -thalassemia và các dạng đột biến phổ biến gây β -thalassemia được trình bày trong hình và bảng sau đây.



Hình 1.5. Vị trí các lớp đột biến điểm gây β thalassemia với các yếu tố cấu trúc quan trọng có trong gen *HBB* (Theo Kazazian.H.H., Jr.,and Boehm.C.D: Blood 72:1107.1988).[18]

Bảng 1.4. Phân loại một số dạng đột biến β -thalassemia phổ biến[33]

Loại đột biến	Kiểu hình	Nguồn gốc
(1). Đột biến phiên mã (Transcriptional mutation)		
- Các yếu tố điều hòa khởi động (promoter)		
- 101 C→T	β^{++} (ấn)	Địa Trung Hải
- 92 C →T	β^+ (ấn)	Địa Trung Hải [36]
- 87 C→T	β^{++}	Đức, Italia
- 86 C→G	β^+	Thái, Lebanese
- 32 C→A	β^+	Đài Loan
- 31 A→G	β^+	Nhật Bản
- 30 T→C	β^+	Trung Quốc
- Vùng 5'-UTR		
CAP + 1A → C	β^{++} (ấn)	Ấn độ, Châu Á
CAP + 8C → T	β^{++} (ấn)	Trung Quốc
CAP + 10 – T	β^{++} (ấn)	Hy Lạp
CAP + 22G → A	β^{++}	Địa Trung Hải, Bulgaria
(2). Đột biến tiến trình hoàn thiện RNA (RNA processing)		
- Điểm kết nối		
IVS I-1 G→A	β^0	Địa Trung Hải
IVS I-1 G→T	β^0	Ấn Độ, Đông Nam Á, Trung Quốc
IVS II-2 -T	β^0	Trung Quốc [37]
IVS I-129 A→C	β^0	Srilanka
IVS II-850 G→T	β^0	Nhật Bản
- Vị trí nối đồng thuận (Consensus splice sites)		
IVS I-5 G→C	$\beta^{0\acute{a}z}$	Ấn Độ, Đông Nam Á, Malaysia
IVS I-5 G→T	β^+	Địa Trung Hải, Bắc Âu
IVS II-5 G→C	β^+	Trung Quốc

IVS II-848 C→G	β^+	Nhật Bản
- Vị trí nối ở intron (Cryptic splice sites in intron)		
IVS I-110 G→A	β^+	Địa Trung Hải
IVS II-654 C→T	β^0/β^+	Trung Quốc, Đông Nam Á, Nhật Bản
IVS II-837 T→G	?	Ấn Độ, Châu Á
- Vị trí nối ở exon (Cryptic splice sites in exons)		
Cd 10 GCC→GCA		Ấn Độ Châu Á
Hb Malay (Asn→Ser)	β^{++}	Đông Nam Á
CD26 GAG→AAG (Glu→Lys, HbE)	β^+	Đông Nam Á, Châu Âu
(3). Đột biến dịch mã RNA (RNA translation)		
- Đột biến mã khởi đầu (Initiation codon)		
ATG→GTG	β^0	Nhật Bản [38]
ATG→AGG	β^0	Trung Quốc
ATG→AAG	β^0	Bắc Âu [39]
ATG→ATC	β^0	Nhật Bản
- Đột biến condon vô nghĩa (Nonsense Codon)		
Cd7 GAG→TAG	β^0	Anh
Cd15 TGG→TAG	β^0	Ấn Độ, Nhật Bản
Cd17 AAG→TAG	β^0	Trung Quốc, Nhật Bản
Cd26 GAG→TAG	β^0	Thái Lan
Cd37 TGG→TGA	β^0	Saudi Arabian
- Đột biến dịch khung (Frameshift)		
Cd5 -CT	β^0	Địa Trung Hải
Cd 8/9 +G	β^0	Ấn Độ, Châu Á, Nhật Bản
Cd 9/10 +T	β^0	Hy Lạp, Arab
Cd 11 -T	β^0	Mexico

Cd15/16 –G	β^0	Đức
Cd 31 –C	β^0	Trung Quốc [40]
Cd 41 –C	β^0	Thái Lan
Cd 59 –A	β^0	Italia
Cd 120/121 +A	β^0	Philippine

1.2.4. Tần số đột biến gen gây bệnh β -thalassemia ở Việt Nam

Thalassemia và Hemoglobin E là các bệnh hemoglobin phổ biến ở Việt Nam [4] [5]. Song nghiên cứu về đột biến gen *HBB* gây β -thalassemia ở người Việt Nam còn ít và chưa đầy đủ. Phân tích đột biến gen β -thalassemia ở người Việt Nam đầu tiên do Dương Bá Trục cùng các cộng tác viên được thực hiện tại Israel năm 2000 [8]. Tiếp theo sau, ngay từ năm 2001 và những năm tiếp theo có một số nghiên cứu về đột biến gen β -thalassemia ở người miền nam và bắc Việt Nam được thực hiện tại Việt Nam. Kết quả cho thấy có 8 loại đột biến gây ra 95% các trường hợp β -thalassemia ở người Việt Nam, gồm Cd17 (AAG-TAG), CD41/42 (-TCTT), -28 (A>G), CD71/72 (+A), IVSI-1 (G>T), IVSI-5 (G>C), IVSII-654 (C>T) và CD26 (GAG>AAG) gây bệnh HbE [10] [11] [12].

Bảng 1.5. Tần số đột biến gen β -thalassemia ở Việt Nam (%)

Đột biến	Nam Việt Nam [11]	Nam Việt Nam [10]	Bắc Việt Nam [8]
-28 (A>G)	7,3	4,4	0
Cd 17 (A>T)	25,0	13,0	48,3
CD41/42 (-TCTT)	35,3	43,5	34,5
CD71/72 (+A)	7,3	8,7	3,4
Cd 95, +5	10,3	0	13,8
IVS I-1 G>T	6,0	4,4	0
IVS II-654 C>T	7,3	13,0	0

1.3. Lâm sàng, huyết học β -thalassemia

1.3.1. Phân loại bệnh β -thalassemia

Biểu hiện lâm sàng và huyết học của bệnh β -thalassemia rất không đồng nhất, khác nhau tùy thể lâm sàng, tùy theo mức độ nặng, nhẹ của bệnh. Sở dĩ như vậy vì bệnh sinh cơ bản của bệnh β -thalassemia là mức độ mất cân bằng tổng hợp mạch globin β và alpha [41], do sự tương tác của các đột biến gen β -globin, ảnh hưởng đến biểu hiện gen *HBB* [42].

Cho đến nay, các tài liệu đều thống nhất bệnh β -thalassemia có bốn thể lâm sàng theo mức độ nặng của bệnh: người mang bệnh tiềm ẩn, β -thalassemia nhẹ, β -thalassemia trung gian và nặng.

Bảng 1.6. Phân loại lâm sàng β -thalassemia [43]

Thể lâm sàng	Lâm sàng
β -thalassemia nhẹ	
• Mang bệnh tiềm ẩn (β)	Huyết học bình thường
• β -thalassemia nhẹ	Thiếu máu nhẹ với hồng cầu nhỏ, nhược sắc
β -thalassemia nặng (Thiếu máu Cooley)	Thiếu máu nặng, chậm tăng trưởng, gan lách to, biến dạng xương, tủy xương rộng
• β -thalassemia nặng	Phụ thuộc truyền máu
• β -thalassemia trung gian	Không cần truyền máu thường xuyên

1.3.2. Phân loại mới về thalassemia

Tài liệu gần đây còn phân loại β -thalassemia thành 2 loại chính

Phụ thuộc truyền máu: cần phải truyền máu thường xuyên để duy trì sự sống bao gồm β thalassemia thể nặng và HbE/ β thalassemia thể nặng [44].

Không phụ thuộc truyền máu: không cần phải truyền máu thường xuyên để duy trì sự sống bao gồm β thalassemia thể trung gian và HbE/ β thalassemia thể trung gian [45]

1.3.3. Mang bệnh tiềm ẩn (Silent Carrier)

1.3.3.1. Lâm sàng

Người mang β -thalassemia tiềm ẩn không có biểu hiện lâm sàng, thường phát hiện được khi nghiên cứu gia đình trẻ bị β -thalassemia nặng, hoặc khi điều tra một quần thể dân cư. Tuy nhiên, một số trường hợp người mang gen β -thalassemia tiềm ẩn đồng hợp tử đã được mô tả có thiếu máu vừa phải (Hb: 60-70g/l) và gan-lách to, không cần phải truyền máu [29].

1.3.3.2. Huyết học

Nghiên cứu thành phần hemoglobin ở người mang gen β -thalassemia tiềm ẩn thấy lượng HbA₂ ở giới hạn bình thường, khác biệt với người β -thalassemia nhẹ.

Có thể nhận biết β -thalassemia tiềm ẩn qua nghiên cứu di truyền phân tử. Có một số đột biến điểm gen β liên quan tới kiểu hình β -thalassemia tiềm ẩn như đã trình bày ở trên [33].

1.3.4. β -thalassemia nhẹ (β -thalassemia Trait)

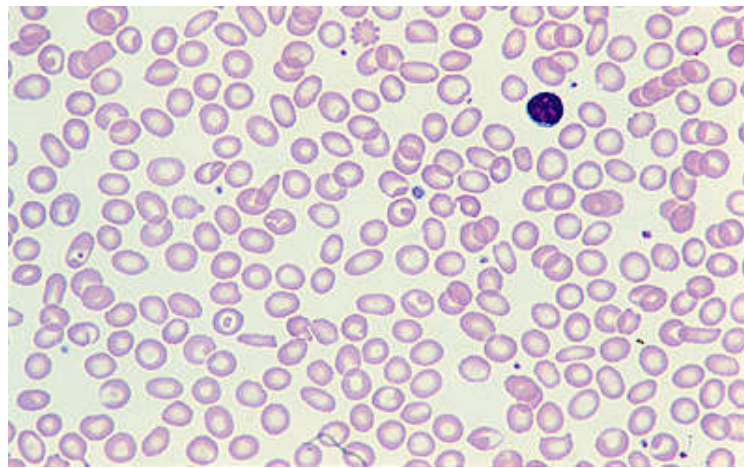
1.3.4.1. Lâm sàng

β -thalassemia nhẹ là thể đột biến dị hợp tử gen β -globin, β^0 hay β^+ -thalassemia, làm ảnh hưởng tới sự tổng hợp mạch globin- β . Về lâm sàng β -thalassemia nhẹ được Riette mô tả đầu tiên năm 1925 ở một bệnh nhân người Italia có thiếu máu nhẹ và tăng sức bền thâu hồng cầu. Tiếp sau đó, năm 1940 Wintrobe và cộng sự phát hiện cả hai bố mẹ bệnh thiếu máu Cooley người Mỹ gốc Italia có hội chứng thiếu máu tương tự. Như vậy, thiếu máu nhẹ là biểu hiện lâm sàng thường thấy ở β -thalassemia nhẹ.

Triệu chứng gan to, lách to ít thấy trong β -thalassemia nhẹ. Biểu hiện lâm sàng gan to, lách to đã được báo cáo chỉ khoảng 10% đến 19% bệnh nhân β -thalassemia ở người Italia và bệnh nhân Hy Lạp, song rất ít gặp ở bệnh nhân người Anh và Thái Lan [43].

1.3.4.2. *Huyết học*

Hình thái điển hình của hồng cầu máu ngoại biên β -thalassemia nhẹ có một số đặc điểm sau: nhiều hồng cầu nhỏ, nhược sắc, nhiều hồng cầu hình bia và hồng cầu hình thoi, tuy nhiên hồng cầu ở một số bệnh nhân vẫn có hình thái gần bình thường. Tại tủy xương có một số đặc điểm, song hồng cầu tăng sinh nhẹ, đời sống hồng cầu giảm nhẹ và có biểu hiện sinh hồng cầu không hiệu quả nhẹ.



Hình 1.6. Hình thái hồng cầu máu ngoại biên β -thalassemia nhẹ (Blood Atlas of Hematology Cerola TK, kapff 24. 1991)

β -thalassemia nhẹ thường là thể dị hợp tử của β -thalassemia. Một gen β có đột biến làm giảm hay mất chức năng hoạt động, chỉ còn một gen β bình thường, cho nên sự tổng hợp mạch globin β ở mỗi hồng cầu trưởng thành bị giảm khoảng một nửa, kết quả làm giảm hemoglobin trung bình hồng cầu (MCH), thể tích trung bình hồng cầu (MCV), tăng hồng cầu nhỏ (microcytosis) và tăng tỷ lệ HbA₂. Tăng hồng cầu nhỏ và tăng HbA₂ là đặc điểm huyết học của β -thalassemia nhẹ [46].

Các nghiên cứu cho thấy có sự thay đổi khá điển hình về các chỉ số hồng cầu, MCV giảm (67-69fl), MCH giảm (18-25pg/hồng cầu), MCHC bình thường, Hb giảm (9-11g/dl) [47].

Thành phần hemoglobin trong β -thalassemia nhẹ cũng có thay đổi, đặc biệt nhất là tăng tỷ lệ HbA₂. Hemoglobin F cũng có thể tăng trong β -thalassemia nhẹ, HbA₂ thay đổi từ 3,5% đến 8%, HbF từ 1% đến 5%.

1.3.5. β -thalassemia nặng (β -thalassemia major)

Hầu hết β -thalassemia nặng được coi như là thể đồng hợp tử β -thalassemia, cả hai gen *HBB* đều bị đột biến. Bệnh được gọi là thiếu máu Cooley, do Thomas Cooley là người đầu tiên mô tả lâm sàng năm 1925.

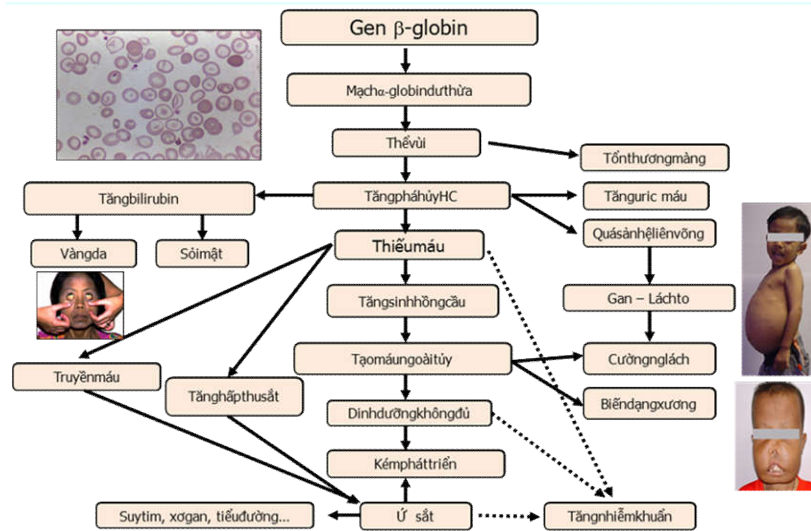
1.3.5.1. Sinh lý bệnh

Bệnh sinh cơ bản của β -thalassemia nặng là do không tổng hợp hay tổng hợp được ít mạch globin β do cả hai gen *HBB* đều đột biến (phụ thuộc vào kiểu hình β^0 -thalassemia hay β^+ -thalassemia và các biến thể).

Do thiếu mạch β -globin để kết hợp thành globin của hemoglobin, nên thừa dư nhiều mạch globin α . Mạch globin α thừa dư không hòa tan, kết tụ làm tổn thương màng tế bào, kết tụ ở hồng cầu ngoại biên gây thiếu máu tan máu, kết tụ ở tủy xương gây sinh hồng cầu không hiệu quả. Tủy tăng sinh, nhưng tạo hồng cầu không hiệu quả, nhiều hồng cầu non bị phá hủy sớm. Đời sống hồng cầu ngắn, gây lách to, cường lách [41] [42].

- Thiếu máu, do hồng cầu vỡ sớm, do tạo hồng cầu không hiệu quả ở tủy.
- Biến dạng xương, do tủy tăng sinh, khoang tủy mở rộng, vỏ xương mỏng, loãng xương, xương biến dạng rõ là xương sọ, xương cột sống làm chèn ép thần kinh và gãy xương.
- Nhiễm sắt nặng nề, do tăng hấp thu sắt ở ruột, quá tải sắt vì phải truyền máu nhiều, hậu quả là:
 - Nhiễm sắt ở da, da sạm, tăng sắc tố da;
 - Nhiễm sắt ở gan gây xơ gan, suy gan;
 - Nhiễm sắc tố máu ở cơ tim làm tim to, suy tim, rối loạn nhịp tim, viêm màng ngoài tim, chết do bệnh tim;
 - Nhiễm sắt ở hệ nội tiết gây tiểu đường, suy tuyến yên, thiếu năng giáp, làm chậm phát triển, chậm dậy thì, suy thượng thận, thiếu năng cận giáp.

- Cường lách:
 - Đòi sống hồng cầu ngắn;
 - Giảm bạch cầu;
 - Giảm tiểu cầu;
 - Tăng khối lượng huyết tương.

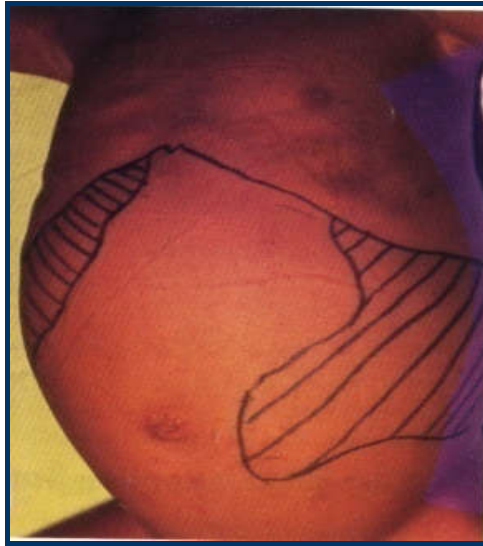


Hình 1.7. Bệnh sinh β -thalassemia nặng (Theo Fucharoen, et al) [17]

1.3.5.2. Lâm sàng

Đặc điểm lâm sàng của β -thalassemia nặng liên quan chặt chẽ với cơ chế bệnh sinh được trình bày ở trên.

- Tuổi phát hiện bệnh: Bệnh có biểu hiện lâm sàng sớm, thường được chẩn đoán từ lúc 6 tháng đến 2 tuổi
- Thiếu máu là biểu hiện được phát hiện sớm, từ ban đầu trẻ bị thalassemia. Thiếu máu xảy ra từ từ, tăng dần, mức độ từ vừa đến nặng, đòi hỏi phải truyền máu nhiều lần, thường xuyên. Biểu hiện tan máu mạn tính như vàng da, lách to, gan to, nước tiểu sẫm màu. Triệu chứng vàng da thường nhẹ, triệu chứng lách to- gan to rất phổ biến. Lách thường to nhiều, đôi khi rất to, tới hố chậu, gây cường lách, làm tăng tình trạng thiếu máu. Gan to, chắc, dễ tiến tới xơ gan, suy gan.



Hình 1.8. Gan to, lách to ở bệnh nhân β -thalassemia nặng

- Biến dạng xương, đặc biệt là xương mặt, xương sọ, hai gò má cao, bướu trán, bướu đỉnh, sống mũi tẹt, hàm trên vẩu, được gọi là “bộ mặt thalassemia”. Khoang tủy mở rộng, chụp xương sọ có hình chân tóc (hair-on-end). Có hiện tượng loãng xương, có thể thấy biểu hiện gãy xương.



Hình 1.9. Bộ mặt thalassemia



Hình 1.10. Xương sọ, hình chân tóc

- Biểu hiện nhiễm sắt nặng do tăng hấp thu sắt ở ruột, do truyền máu nhiều và do sinh hồng cầu không hiệu quả. Tình trạng nhiễm sắc tố sắt mô (hemochromatosis) rất nặng nề ở tất cả các cơ quan. Da sạm xỉn màu đồng, nhiễm sắt nặng ở gan, ở cơ tim, làm gan to, xơ gan, tim to, suy tim, rối loạn nhịp tim. Nhiễm sắt nặng ở hệ nội tiết làm suy chức năng nhiều bộ phận. Chậm phát triển cơ thể, chậm dậy thì, rối loạn nội tiết, suy tuyến yên, giảm nội tiết hướng sinh dục, tiểu đường phụ thuộc insulin, suy thượng thận, thiếu năng tuyến giáp và cận giáp.

- Trẻ dễ bị nhiễm khuẩn, có thể có biểu hiện loét ở cẳng chân khó hồi phục.

- Nếu không được điều trị, đa số tử vong trước 5 tuổi, ít khả năng sống quá 10 tuổi. Nguyên nhân tử vong do:

- Suy tim sung huyết do nhiễm sắt cơ tim;
- Rối loạn nhịp tim
- Nhiễm khuẩn thứ phát, nhất là ở bệnh nhân cắt lách;
- Suy chức năng nhiều bộ phận [48]

Nếu được điều trị đầy đủ bằng truyền máu kế hoạch, thải sắt, ghép tế bào gốc tạo máu, bệnh nhân có thể có cuộc sống bình thường.

1.3.5.3. Huyết học

Có nhiều biến đổi khá đặc hiệu trong β -thalassemia nặng.

- Hồng cầu giảm nặng có biến đổi hình thái nhiều, hồng cầu nhược sắc, to nhỏ không đều, nhiều hồng cầu nhỏ, có nhiều hồng cầu hình bia, hồng cầu hình giọt nước, hồng cầu mảnh, bắt màu không đều (polychromasia), có hồng cầu hạt kiềm, có hồng cầu còn nhân, nguyên hồng cầu. Hồng cầu lưới tăng. Các chỉ số hồng cầu thay đổi, MCV giảm, MCH giảm, MCHC đa số cũng giảm.

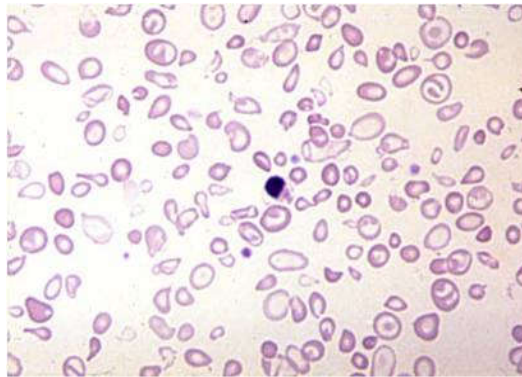
Sức bền thẩm thấu hồng cầu tăng.

Đời sống hồng cầu đo bằng hồng cầu có đánh dấu Cr^{51} thấy giảm, do sinh hồng cầu không hiệu quả, góp phần làm thiếu máu nặng.

Trong tủy thấy tăng sản tủy, có thể thấy nguyên hồng cầu khổng lồ do thiếu folat.

- Thành phần hemoglobin thay đổi khá đặc hiệu, HbF tăng cao từ 20% đến 90%, HbA₂ tăng từ 2% đến 8%, HbA₁ giảm nặng còn từ 0% đến 80%, tùy thuộc vào kiểu đột biến β^0 hay β^+ -thalassemia.

- Bạch cầu và tiểu cầu giảm khi có cường lách.



Hình 1.11. Hình ảnh máu ngoại biên β -thalassemia nặng
(*Blood Atlas of Hematology Cerola TK, kapff 24. 1991*)

1.3.6. β -thalassemia trung gian (β -thalassemia intermedia)

Từ thalassemia trung gian thường được dùng để mô tả bệnh nhân β -thalassemia mà biểu hiện lâm sàng ở giữa β -thalassemia nặng và β -thalassemia nhẹ, nhưng gần bệnh cảnh lâm sàng của β -thalassemia nặng hơn [49] [50].

1.3.6.1. Lâm sàng

Biểu hiện lâm sàng β -thalassemia trung gian gần giống như thể nặng nhưng biểu hiện bệnh chậm hơn. Thiếu máu chậm hơn hầu hết từ 2 tuổi hoặc lớn hơn, mức độ thiếu máu nhẹ hơn, ít cần truyền máu hoặc truyền máu ít hơn. Các biểu hiện gan to, lách to vừa phải, biến dạng xương không rõ rệt. Biểu hiện chậm phát triển khi diễn biến lâu ngày, không được điều trị đầy đủ. Nếu được điều trị tích cực, đầy đủ bệnh nhân vẫn sống khỏe mạnh.

1.3.6.2. Huyết học

Hình thái hồng cầu thay đổi tương tự như β -thalassemia nặng. Thành phần hemoglobin thay đổi như β -thalassemia nặng, HbF tăng cao, song tăng ít hơn so với β -thalassemia nặng; HbA1 giảm, song ít khi mất hoàn toàn, HbA2 thường cao hơn so với β -thalassemia nặng.

Có thể phân biệt β -thalassemia nặng và trung gian qua một số tiêu chuẩn như bảng sau [51][52][53].

Bảng 1.7. Phân biệt β -thalassemia nặng và trung gian

Biểu hiện	Thể β-thalassemia nặng	β-thalassemia trung gian
Lâm sàng - Tuổi phát hiện - Gan/lách to - Hb (g/l)	< 2 Nhiều < 70	> 2 Ít/Vừa 80-100
Huyết học - HbF (%) - HbA2 (%)	> 50 < 4	10-50 > 4
Di truyền - Bố, mẹ	Cả hai mang gen bệnh β -thalassemia với HbA2 cao	Một hay cả hai mang gen bệnh không điển hình - β -thalassemia HbF cao - HbA2 ở giới hạn
Phân tử - Dạng đột biến - Di truyền đồng thời α -thalassemia - Tồn tại Hb bào thai di truyền - $\delta\beta$ -thalassemia - G γ Xmn/đa hình thái	Nặng Không Không Không Không	Nhẹ/tiềm ẩn Có Có Có Có

1.4. Liên quan giữa kiểu gen – kiểu hình β -thalassemia

1.4.1. Phân loại lâm sàng theo kiểu gen β -thalassemia

β -thalassemia được phân loại 4 thể lâm sàng theo mức độ nặng khác nhau: thể mang gen ỉn (silent carrier), β -thalassemia nhẹ (β -thalassemia trait), β -thalassemia trung gian (β -thalassemia intermedia) và β -thalassemia nặng (β -thalassemia major) [29]. Hiểu biết về di truyền phân tử β -thalassemia là cơ sở để hiểu biết đầy đủ tính không đồng nhất về lâm sàng của β -thalassemia.

Tính không đồng nhất về lâm sàng của β -thalassemia thể hiện sự tương tác các đột biến đặc hiệu của gen β -globin, ảnh hưởng tới biểu hiện gen β -globin. Nhiều đột biến mất chức năng của protein ở mức độ β -globin (β^0), nhiều đột biến khác chỉ làm giảm chức năng của protein ở mức độ β -globin (β^+) [41]. Như vậy gen β^0 -globin không tổng hợp được mạch β -globin, gen β^+ còn tổng hợp được một phần chuỗi β -globin, ảnh hưởng tới biểu hiện lâm sàng, huyết học β -thalassemia. Liên quan giữa biến đổi di truyền với lâm sàng, huyết học được trình bày trong bảng 1.8.

Bảng 1.8. Phân loại lâm sàng β -thalassemia theo kiểu gen

(Musallan, Rivella và cs. 2013)[55]

Phân loại	Kiểu gen	Lâm sàng
Mang gen ỉn (Silent carrier)	β/β^+ (đột biến gen β Thể ỉn)	- Không triệu chứng - Không có bất thường huyết học
β -thalassemia nhẹ (β -thalassemia Trait)	β^0/β hoặc β^+/β (đột biến gen β nhẹ và trung bình)	- Triệu chứng không rõ - Hồng cầu nhỏ, nhược sắc
β -thalassemia trung gian (intermedia)	- β^0/β^+ nhẹ, β^+/β^+ nhẹ - β^0/β^+ , β^+/β^+ , β^0/β với 1 đột biến gen β ỉn - β^0/β^0 , β^+/β^+ , β^0/β^+ và có	- Biểu hiện triệu chứng muộn - Thiếu máu nhẹ hoặc vừa - Không phụ thuộc truyền

	hoặc không mất đoạn α $-\beta^0/\beta^0, \beta^+/\beta^+, \beta^0/\beta^+$ và có thể tăng tổng hợp mạch γ $-\text{mất đoạn của } \delta\beta$ thalassemia và tồn tại hemoglobin bào thai $-\beta^+/\beta$ hoặc β^0/β và đa tổng hợp mạch α	máu - Độ nặng lâm sàng thay đổi từ nhẹ đến nặng
β -thalassemia nặng (major)	$\beta^0/\beta^0, \beta^+/\beta^+, \beta^0/\beta^+$	- Biểu hiện lâm sàng sớm - Thiếu máu nặng - Phụ thuộc truyền máu

Về cơ chế bệnh sinh của β -thalassemia, mức độ nặng của bệnh phụ thuộc vào mức độ mất cân bằng giữa tổng hợp mạch globin loại α và loại β . Do đó khả năng tổng hợp mạch γ -globin có thể điều hòa được mức độ nặng lâm sàng. Tổng hợp nhiều mạch globin γ ở tế bào tủy xương ở bệnh nhân β -thalassemia có thể làm giảm tình trạng mất cân bằng thừa dư mạch α , làm cải thiện sự sản sinh hồng cầu, làm giảm nhẹ bệnh [55]. Một số đột biến β -thalassemia làm ảnh hưởng tới biểu hiện gen γ một cách trực tiếp, một số β -thalassemia đồng hợp tử khác lại thừa kế gen phụ thêm làm tăng tổng hợp hemoglobin bào thai. Di truyền đồng thời một đột biến α - β -thalassemia cũng làm giảm sự mất cân bằng tổng hợp mạch globin trong β -thalassemia đồng hợp tử hay dị hợp tử [36]. Như vậy mức độ nặng lâm sàng ở mỗi bệnh nhân là kết quả của sự tương tác của các gen di truyền. Đột biến di truyền và lâm sàng, huyết học β -thalassemia có sự tương quan khá chặt chẽ.

1.4.2. Liên quan giữa kiểu gen – kiểu hình β -thalassemia ẩn

Người mang β -thalassemia tiềm ẩn không có biểu hiện lâm sàng, thường phát hiện được khi nghiên cứu gia đình trẻ bị β -thalassemia nặng,

hoặc khi nghiên cứu ở người bình thường nhưng thấy có hồng cầu nhỏ hay có giảm nhẹ tổng hợp chuỗi β -globin ở hồng cầu lưới máu ngoại biên.

Người mang β -thalassemia ẩn nói chung cũng không có biến đổi về huyết học, lượng HbA2 ở mức bình thường, khác với β -thalassemia nhẹ hay β -thalassemia trait.

Song về phương diện di truyền phân tử thấy có giảm nhẹ sự tổng hợp β -globin. Có một số đột biến điểm liên quan đến kiểu hình mang đột biến gen ẩn β -thalassemia. Đột biến vùng promoter -101 C→T, -92 C→T là nguyên nhân phổ biến của mang đột biến gen ẩn β -thalassemia ở người Italia, Bulgaria và Thổ Nhĩ Kỳ [56] [57] [58]. Đột biến ở vị trí 5'-UTR điểm CAP+1 A→C thấy ở Ấn Độ, CAP+8 C→T thấy ở người Trung Quốc, CAP+10 -T và CAP+33 C→G thấy ở người Hy Lạp [59] [60] [61] (bảng 1.9).

Bảng 1.9. Các đột biến β -thalassemia tạo ra thể ẩn và thể nhẹ

Kiểu hay vị trí đột biến	β^+ nhẹ (Mild)	β^+ ẩn (Silent)	
Đột biến phiên mã sát gần hộp CACC	- 90 C > T	- 101 C > T	
	- 88 C > T	- 92 C > T	
	- 88 C > A		
	- 87 C > T		
	- 87 C > G		
	- 87 C > A		
	- 86 C > T		
	- 86 C > G		
	Hộp TATA	- 31 A > G	
		- 30 T > A	
- 29 A > G			
5' UTR	+ 22 G > A		
		+ 8 C > T	
	+ 10 - T		

	+ 13 C > G	+ 1' A > C
		+ 33 C > G
Vị trí nối thay phiên (Alternative splicing)	cd 19 A > C (Hb Malay)	cd 27 G > T (Hb Knossos)
	cd 24 T > A	
Vị trí nối đồng thuận (Consensus splicing)	IVS1 – 6 T > C	
Intron		IVS2 – 844 C > G
3' UTR		+ 6 C > G
Vị trí Poly – A	AACAAA	AATAAG
	AATGAA	
B ⁰ thể nhẹ - Đột biến dịch khung	cd 6 – AA	
	cd 8 AA	

(Nguồn: Cao A, Glanello R. *Molecular genetics of Beta thalassemia.*

Genetics in Medicine 2010; 12; 2; 63 – 65) [30]

1.4.3. Liên quan giữa kiểu gen - kiểu hình β -thalassemia nhẹ (β -thalassemia trait)

Như trên đã mô tả, về lâm sàng, người β -thalassemia nhẹ thường có thiếu máu nhẹ, thường phát hiện thấy ở cả hai bố mẹ bệnh nhân thiếu máu Cooley, β -thalassemia nặng, hoặc khi sàng lọc người bình thường trong cộng đồng. Tình trạng thiếu máu ở người β -thalassemia thể nhẹ sẽ tăng lên nếu có kèm thiếu sắt, thiếu acid folic, có thai, hay bị bệnh mạn tính.

Xét nghiệm huyết học thấy hồng cầu nhỏ, nhược sắc, có hồng cầu hình bia, hồng cầu hình bầu dục, song cũng có người β -thalassemia có hồng cầu gần như bình thường. Tủy xương thấy có tăng sinh hồng cầu, hồng cầu có đời sống dài, và sinh hồng cầu không hiệu quả nhẹ. Một đặc điểm phổ biến ở β -thalassemia nhẹ là tăng HbA₂. Lượng HbA₂ tăng ở mỗi hồng cầu. Hồng cầu bình thường có từ 0,6 đến 0,7 pg, hồng cầu β -thalassemia thể nhẹ chứa khoảng 1,0pg HbA₂. Tăng HbA₂ trong β -thalassemia thể nhẹ là do tăng mạch

δ -globin sản sinh từ gen δ bên cạnh gen β bị đột biến β -thalassemia, và từ gen δ của nhiễm sắc thể đối diện còn bình thường. Tăng HbA₂ còn do sự phối hợp của mạch globin δ với mạch globin α , thay thế cho mạch globin β thiếu [62] [63]. Dựa vào đặc điểm huyết học, các chỉ số thể tích trung bình hồng cầu (MCV), huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCH), sức bền thẩm thấu hồng cầu, và tăng HbA₂ được sử dụng để sàng lọc β -thalassemia nhẹ.

Liên quan với những biểu hiện lâm sàng, đặc điểm huyết học trong β -thalassemia nhẹ là có những biến đổi về di truyền. Người bị β -thalassemia nhẹ là β -thalassemia dị hợp tử. Một gen β bị đột biến làm giảm hay mất chức năng tổng hợp mạch globin β , còn một gen bình thường, kiểu gen có thể là β^+/β hay β^0/β . Đột biến gen có thể thuộc một trong các loại đột biến đã trình bày ở bảng 1.4. Đo lường tỷ lệ sinh tổng hợp mạch β và α ở người β -thalassemia nhẹ thường khó nhận biết bởi vì có sự biến đổi về mức độ nặng của đột biến, các đột biến rất đa dạng. Tỷ lệ sinh tổng hợp mạch β và α ở hồng cầu lưới ngoại biên thay đổi từ 0,5 đến 0,7 mức bình thường, vì chỉ có một gen β bị giảm mất chức năng. Hầu hết β -thalassemia nhẹ, lượng HbA₂ tăng trên 3,5% đến 8% hemoglobin, trong khi HbF chỉ thay đổi từ 1 đến 5% hemoglobin. Các nghiên cứu còn chỉ ra rằng các thay đổi về chỉ số hồng cầu, MCV và MCH có liên quan tới dị hợp tử β^+ hay dị hợp tử β^0 . Chỉ số MCV và MCH ở dị hợp tử β^+ cao hơn dị hợp tử β^0 . Nghiên cứu ở người da đen thấy đa số đột biến ở vùng promoter, làm giảm nhẹ mức độ biểu hiện gen *HBB* [30].

Trong β -thalassemia nhẹ, về huyết học có thể vừa tăng HbA₂, vừa tăng HbF, HbF có thể tăng từ 5% đến trên 10% hemoglobin. Thể β -thalassemia nhẹ này là kết quả từ đột biến mất đoạn, làm mất đoạn gen *HBB* nhưng vẫn còn lại đoạn gen ϵ và γ .

Trường hợp β -thalassemia nhẹ mà HbA₂ vẫn bình thường, cần phân

biệt với người mang gen ỉn. Mặc dầu HbA₂ bình thường, nhưng vẫn có đặc điểm hồng cầu nhỏ, nhược sắc, khác với người mang gen ỉn, hồng cầu gần như bình thường. Kiểu hình β -thalassemia nhẹ này tương quan với đột biến đồng thời cả hai gen β và δ . Đột biến gen δ có thể ở cùng nhiễm sắc thể hay ở nhiễm sắc thể đối diện của gen β .

Người β -thalassemia nhẹ là β -thalassemia dị hợp tử như đã trình bày ở trên. Song những nghiên cứu gần đây còn chỉ ra có hai cơ chế làm tăng mức độ nặng về lâm sàng, huyết học của β -thalassemia dị hợp tử, biểu hiện như β -thalassemia trung gian:

(1) Cơ chế thứ nhất liên quan đến dị hợp tử kép đồng thời giữa gen β -thalassemia và thể 3 hay 4 gen α globin (triple or quadruple α globin gene), làm tăng sự mất cân bằng tổng hợp mạch globin alpha/ mạch globin không alpha, làm tăng quá mức mạch alpha không kết hợp, gây vỡ hồng cầu non tiền thân, sinh hồng cầu không hiệu quả (xem cơ chế bệnh sinh β -thalassemia) [64] [65] [66] [67].

(2) Cơ chế thứ hai làm tăng mức độ nặng của β -thalassemia dị hợp là do đặc điểm của đột biến ở gen β -globin, tạo ra các mạch β -globin không ổn định, gắn vào tiền hồng cầu non trước khi kết hợp với mạch alpha, tạo ra các thể bám, gây tạo hồng cầu không hiệu quả [68] [69].

1.4.4. Liên quan giữa kiểu gen-kiểu hình β -thalassemia thể nặng (β -thalassemia major)

β -thalassemia nặng hay thiếu máu Cooley là thể lâm sàng có đột biến ở cả hai gen *HBB* hay β -thalassemia đồng hợp tử. Biểu hiện lâm sàng bệnh xảy ra sớm, hầu hết ngay từ lúc dưới 1 tuổi, với các triệu chứng của thiếu máu tan máu, thiếu máu thường nặng phụ thuộc vào truyền máu. Triệu chứng gan to, lách to phổ biến là to nhiều; có hiện tượng biến dạng xương và loãng xương. Bệnh tiến triển mạn tính, có biểu hiện nhiễm sắt nặng do tăng hấp thu sắt ở ruột và do truyền máu.

Về huyết học, có nhiều biến đổi khá đặc hiệu, liên quan đến không tổng hợp hoặc tổng hợp được ít mạch globin β . Hồng cầu giảm nặng, hồng cầu nhược sắc, hồng cầu nhỏ, có nhiều hồng cầu hình bia, hình giọt nước, hồng cầu mảnh, hồng cầu bắt màu không đều, có nhiều hồng cầu kiềm, có nhiều hồng cầu còn nhân, nguyên hồng cầu, hồng cầu lưới tăng. Tại tủy xương thấy có hiện tượng tăng sinh tủy, sinh hồng cầu không hiệu quả. Thành phần hemoglobin thay đổi đặc hiệu, HbA₁ không còn nếu là đột biến đồng hợp tử β^0 -thalassemia, HbA₁ giảm nặng nếu là đồng hợp tử β^+ -thalassemia, HbF tăng cao, HbA₂ tăng. Bệnh sinh cơ bản của β -thalassemia nặng là không tổng hợp hoặc tổng hợp được ít mạch globin β , mất cân bằng giữa tổng hợp mạch β và mạch α , thừa dư nhiều mạch globin α . Mạch α thừa dư không hòa tan, kết tụ trong tế bào ở ngoài tủy gây thiếu máu tan máu, kết tụ trong tế bào tủy làm sinh hồng cầu không hiệu quả.

Liên quan về di truyền, có ba yếu tố chính liên quan đến mất cân bằng sinh tổng hợp mạch globin ở bệnh nhân β -thalassemia nặng: bản chất của các đột biến đặc hiệu, có những bất thường ở cụm α -globin làm tăng hay làm giảm biểu hiện α -globin, và khả năng di truyền tổng hợp HbF. Khả năng tổng hợp mạch globin β ở bệnh nhân β -thalassemia nặng phụ thuộc vào các đột biến đặc hiệu ở gen β -globin. Phần lớn bệnh nhân β -thalassemia nặng phụ thuộc vào truyền máu, cả hai alen β -globin cùng bị đột biến, thể β -thalassemia đồng hợp tử (β^0/β^0 hay β^+/β^+); song cũng có một số bệnh nhân có biểu hiện lâm sàng như β -thalassemia đồng hợp tử nhưng thực ra là dị hợp tử kép với hai đột biến khác nhau (β^0/β^+). Tính chất đặc hiệu các đột biến liên quan tới mức độ nặng của bệnh. Đột biến ở đầu cho điểm kết nối IVS-1 gây thể nặng vì làm nghẽn hoàn toàn sự sửa chữa kết nối của β -globin mRNA. Bệnh nhân β -thalassemia đồng hợp tử có đột biến hai nucleotid GT ở điểm kết nối gây thể nặng β^0 - phụ thuộc truyền máu. Thay thế nucleotide C hay T ở vị trí 5' của đầu cho kết nối chuỗi

đồng thuận tạo ra thể β^+ -thalassemia nặng, trong khi nếu thay thế ở nucleotid A ở vị trí đó sẽ gây ra thể nhẹ hơn. Thay thế T bằng C ở vị trí 6 sẽ gây ra thể nhẹ, như β^+ -thalassemia [63]. Các đột biến gây ra bất thường làm giảm biểu hiện gen α -globin, giảm tổng hợp mạch globin α , sẽ làm giảm nhẹ bệnh β -thalassemia. Những đột biến mất đoạn trong cụm gen HBB và đột biến điểm ở vùng promoter của gen γ -globin, có thể làm tăng biểu hiện gen γ -globin, làm tăng tổng hợp HbF cũng cải thiện lâm sàng β -thalassemia. Như vậy, nhiều yếu tố ảnh hưởng tới lâm sàng, huyết học β -thalassemia nặng; đặc điểm kiểu gen đột biến có liên quan nhiều nhất.

Nói chung đa số β -thalassemia nặng là β -thalassemia đồng hợp tử. Song có 3 lý do làm giảm nhẹ lâm sàng, huyết học β -thalassemia đồng hợp tử:

(1) Đồng hợp tử hai alen β -thalassemia thể ẩn (bảng 1.4., 1.7.), các đột biến β -thalassemia ẩn không làm biến đổi huyết học, làm giảm nhẹ sự mất cân bằng tỷ lệ tổng hợp mạch globin alpha/ không alpha [70] [71] [72]. Đồng hợp tử hai alen ẩn, làm giảm nhẹ lâm sàng, huyết học, gây β -thalassemia kiểu trung gian, cũng giống như dị hợp tử kép β^0/β^+ cũng gây thể trung gian.

(2) Cơ chế thứ hai làm giảm nhẹ β -thalassemia đồng hợp tử là đồng hợp tử đồng thời β -thalassemia và α -thalassemia làm giảm mạch alpha/không alpha. Chỉ cần khuyết (mất) một gen alpha globin đủ để cải thiện kiểu hình lâm sàng β^+ -thalassemia đồng hợp tử, còn đối với β^0 -thalassemia đồng hợp tử phải cần khuyết hai gen globin-alpha mới đủ làm giảm nhẹ kiểu hình lâm sàng [73] [74] [75].

(3) Cơ chế thứ ba là có một bệnh di truyền làm tiếp tục sản sinh mạch gamma-globin ở tuổi trưởng thành, do đó làm giảm nhẹ mất cân bằng mạch alpha/không alpha. Cơ chế xảy ra trong trường hợp delta-beta-thalassemia, và các trường hợp làm tăng mạch gamma, trong trường hợp tồn tại di truyền HbF (HPFH), gây đột biến điểm ở vùng khởi động G-gamma hay A-gamma (-196C-T A-gamma, -158C \rightarrow TG-gamma) [76].

1.4.5. Liên quan giữa kiểu gen-kiểu hình β -thalassemia thể trung gian (β -thalassemia intermedia)

B-thalassemia trung gian là thể lâm sàng trung gian giữa β -thalassemia nặng phải phụ thuộc truyền máu với β -thalassemia nhẹ. Bệnh cảnh lâm sàng tương tự như β -thalassemia nặng, song thiếu máu thường xảy ra muộn hơn, mức độ thiếu máu vừa phải, hemoglobin thường khoảng 70g/l, không phải truyền máu hoặc phải truyền máu ít, thường ở bệnh nhân β -thalassemia đồng hợp tử, β -thalassemia dị hợp tử, hoặc phối hợp với một bệnh hemoglobin khác.

Về huyết học, hình thái hồng cầu và sinh lý bệnh của thiếu máu trong β -thalassemia trung gian tương tự như β -thalassemia nặng. Thành phần hemoglobin thấy HbF có thể 20-100%, HbA₂ có thể tới 7%, còn HbA₁ từ 0-80%.

Cơ sở phân tử của β -thalassemia trung gian là hiện tượng mất cân bằng tổng hợp mạch β -globin và α -globin ở mức độ giữa β -thalassemia nhẹ và β -thalassemia nặng. Nguyên nhân là do đặc điểm kiểu gen đột biến β -thalassemia hay do đồng thời với một di truyền khác điều hòa sự cân bằng tổng hợp mạch α và β (Bảng 1. 8)[77].

Bảng 1.10. Cơ chế phân tử của β -thalassemia trung gian [77]

Đồng hợp tử hay dị hợp tử kép

* Đột biến gen gây bệnh β -thalassemia

- Đột biến nhẹ

- Đột biến ần

- Đột biến nhẹ/ần

* Di truyền đồng thời với α -thalassemia

- Thiếu hụt một gen α -globin ($-\alpha/\alpha$)

- Thiếu hụt hai gen α -globin ($-\alpha/-\alpha$ hay

- $-\alpha \alpha$)
- Đột biến điểm 2 gen α globin
- * Di truyền làm tăng sản sinh HbF
- Do đột biến gen Delta-thalassemia:
DeltaBeta-thalassemia, mất khởi động gen β
- Đột biến đồng thời ở vùng khởi động Agamma hay Ggamma
(-158Ggamma (A \rightarrow T) - 196 Agamma (C \rightarrow T).
- HPFH (Tồn tại HbF di truyền), đột biến vùng BCL11A ở nhiễm sắc thể 2 và vùng HBS1L – MYB ở nhiễm sắc thể 6.

Cơ sở di truyền gây β -thalassemia trung gian là do đột biến đồng hợp tử hay đột biến dị hợp tử kép, làm giảm nhẹ biểu hiện gen β -globin. Những đột biến gây β -thalassemia trung gian đáng chú ý là một số đột biến vùng promoter gen β , đột biến điểm CAP+1, đột biến IVS-1 vị trí 6, và đột biến HbE, Hb Knossos. Tăng cường sản sinh mạch γ -globin, do cơ chế không mất đoạn hay mất đoạn cũng làm giảm tình trạng mất cân bằng mạch globin này. Đột biến mất đoạn $\delta\beta$ -thalassemia, hay đột biến dị hợp tử kép $\delta\beta$ -thalassemia và β -thalassemia cũng gây ra β -thalassemia trung gian. Di truyền đồng thời của β -thalassemia dị hợp tử và trên 3 gen α -globin (triple arrangement of α -globin gene) cũng là nguyên nhân gây β -thalassemia trung gian. Sự kết hợp với gen α thalassemia, hoặc bị ảnh hưởng các gen khác ở vị trí QTLs- $Xmn1-0\gamma$, BCL11A làm cho bệnh β Thalassemia bớt nặng hơn [78] [79] [80] [81].

* Tóm lại, có sự liên quan khá chặt chẽ giữa kiểu gen – kiểu hình lâm sàng, huyết học β -thalassemia. Nghiên cứu cơ sở di truyền giúp hiểu biết, giải thích sâu sắc những biểu hiện bệnh, diễn biến bệnh cũng như những đặc điểm huyết học của β -thalassemia.

1.5. Khái quát về điều trị và dự phòng β -thalassemia

1.5.1. Điều trị

Điều trị β -thalassemia được đặt ra cho β -thalassemia nặng và trung

gian, còn thể nhẹ không cần điều trị. Các phương pháp điều trị tối ưu dựa trên cơ chế bệnh sinh của bệnh [49].

- Điều trị truyền máu cho β -thalassemia:

Truyền máu đều đặn góp phần quan trọng để duy trì và nâng cao chất lượng cuộc sống cho bệnh nhân β -thalassemia nặng [82]. Thalassemia nặng không được truyền máu, hoặc truyền máu đơn thuần không đều thường chết trước 5 tuổi, ít trẻ có thể sống được 10 tuổi [83]. Truyền máu phải được duy trì đều đặn, để lượng hemoglobin trước khi truyền trên 9-10g/dl, thường 2-5 tuần phải truyền một lần. Chế độ truyền máu nhằm bảo đảm cho trẻ tăng trưởng bình thường, làm giảm sinh erythropoietin, ức chế hiện tượng tăng sinh hồng cầu không hiệu quả, bớt biến dạng khoang tủy xương, giảm hấp thu sắt ở ruột, hạn chế tình trạng nhiễm sắt [84][85].

- Điều trị thải sắt cho β -thalassemia

Mục tiêu của thải sắt là làm giảm sắt để đạt được nồng độ sắt an toàn và làm giảm độc tính của sắt đã gắn vào mô gây tổn hại cơ quan. Điều trị thải sắt được bắt đầu khi đã truyền máu 10-20 lần, hoặc khi nồng độ ferritin huyết thanh trên 1.000 $\mu\text{g/L}$ [44].

Deferoxamine được đưa vào điều trị β -thalassemia nặng từ những năm 1970 của thế kỷ trước. Truyền thuốc chậm dưới da, trong thời gian 8-12 giờ với Deferioxamine 10% bằng một bơm tiêm riêng [86]. Liều chuẩn cho trẻ em là 20 – 40mg/kg cơ thể, cho người lớn là 50 mg/kg cơ thể, truyền dưới da 8 – 12 giờ, 6 lần một tuần [87][88]. Các thuốc thải sắt dạng uống như Deferiprone 75mg/kg/ngày được coi là thuốc đơn trị liệu thứ hai. Thuốc thải sắt mới nhất đang được chú ý là Deferasirox (Exjade) có tác dụng giảm sắt ở gan với liều 20mg/kg/ngày.

- Điều trị cắt lách trong β -thalassemia

Điều trị cắt lách không phải là một điều trị thường quy. Chỉ định cắt lách trong các trường hợp sau:

- Nhu cầu truyền máu hàng năm tăng 1,5 lần, hoặc hơn 200-220ml khối hồng cầu/kg/năm để duy trì lượng hemoglobin trung bình.

- Lách quá to, dễ nguy cơ vỡ lách.

- Cường lách, giảm bạch cầu hay giảm tiểu cầu gây rối loạn lâm sàng.

- Trẻ trên 5 tuổi (trẻ dưới 5 tuổi, hệ miễn dịch chưa trưởng thành sau cắt lách dễ có nguy cơ nhiễm trùng nặng). Có thể thực hiện cắt lách một phần để bảo tồn một phần chức năng miễn dịch của lách [89], hay làm tắc mạch lách làm giảm mô lách.

- Ghép tế bào gốc tạo máu cho β -thalassemia

Ghép tế bào gốc tạo máu là phương pháp chữa khỏi bệnh β -thalassemia, được thông báo đầu tiên do Thomas và cộng sự 1981 [90]. Từ đó đến nay, ghép tế bào gốc tạo máu đã được thực hiện khá rộng rãi ở nhiều nước trên thế giới. Đáng lưu ý là kết quả đã được công bố của Luracelli và cộng sự năm 2012, trên một số lượng lớn bệnh nhân (trên 651 bệnh nhân) thalassemia, tỷ lệ sống không bệnh đạt từ 58% năm 1997, đến 91% năm 2012 [91][92]. Hongeng và cộng sự, năm 2006, tại Bệnh viện Ramathibodi, Thái Lan, ghép tế bào gốc tạo máu cho bệnh nhân thalassemia, tỷ lệ sống không bệnh đạt 82% với người cho phù hợp HLA cùng huyết thống, và 71% ở bệnh nhân với người cho không cùng huyết thống [93].

Tại Việt Nam, Bệnh viện Nhi Trung ương năm 2014 đã công bố ghép tế bào tạo máu cho 8 bệnh nhân β -thalassemia, với người cho là anh chị em ruột, đã có thành công 6 trong 8 bệnh nhân, tỷ lệ sống không bệnh đạt 75% [94].

- Điều hòa hemoglobin F

Bệnh sinh cơ bản của β -thalassemia là sự mất cân bằng tổng hợp mạch globin, thiếu hụt mạch β , thừa dư mạch α . Cách tiếp cận mới là làm giảm mất cân bằng này bằng cách làm tăng tổng hợp mạch gamma, để kết hợp với mạch

α dư thừa thành HbF, làm giảm lượng α dư thừa. Trong 15 năm gần đây, các thuốc độc tế bào có tác dụng tăng biểu hiện gen gamma-globin, như 5-aracytidine, cytosine arabinoside, hydroxyurea, erythropoietin và dẫn xuất acid butyric đã được sử dụng để điều trị β -thalassemia [95].

- Gen trị liệu β -thalassemia.

Gen trị liệu là liệu pháp điều trị tận gốc của bệnh hemoglobin, như β -thalassemia nặng, bằng cách truyền gen lành vào tế bào gốc. Đây là biện pháp hiệu quả trong tương lai đang được nỗ lực nghiên cứu [96].

1.5.2. Dự phòng thalassemia

Mục tiêu chủ yếu để dự phòng thalassemia là làm hạn chế sinh ra thalassemia thể nặng. Nội dung then chốt là:

- Giáo dục sức khỏe cộng đồng, đóng vai trò cơ bản [97][98].
- Sàng lọc người mang gen β -thalassemia trước thai nghén [99][100] và sàng lọc trước sinh [101][102].
- Tư vấn di truyền [103].
- Chẩn đoán trước sinh, được chỉ định cho các trường hợp nghi ngờ có thể sinh con thalassemia thể nặng [104], hoặc trung gian [105], các bà mẹ mang thai mà cả vợ và chồng đều mang gen β -thalassemia hay một hemoglobin bất bình thường khác [106].

Hiện nay một số phương pháp mới trong chẩn đoán trước sinh được nghiên cứu, đó là chẩn đoán trước sinh không xâm lấn, lấy tế bào thai nhi và DNA thai nhi tự do trong máu mẹ để chẩn đoán trước sinh, và chẩn đoán tiền làm tổ, hay chẩn đoán di truyền trước thụ thai, để thay thế cho phương pháp kinh điển, phải sinh thiết gai rau, lấy dịch ối [105].

Tại Việt Nam, trong 10 năm gần đây việc nghiên cứu đột biến gen đang phát triển, các kỹ thuật phát hiện đột biến gen ngày càng hoàn chỉnh, chẩn đoán trước cho bệnh nhân thalassemia đang bước đầu được áp dụng cho các cặp vợ chồng đã có con bị thalassemia và cặp vợ chồng cùng mang gen bệnh.

Chẩn đoán trước sinh đang được thực hiện thường quy tại Bệnh viện Nhi trung ương [107][108], Viện Huyết học – truyền máu trung ương [109], Bệnh viện Từ Dũ Thành phố Hồ Chí Minh. Các cặp vợ chồng mang thai mang đột biến gen gây bệnh thể nặng đã được tư vấn đình chỉ thai, góp phần làm giảm các trường hợp thalassemia nặng mới mắc ở cộng đồng. Ứng dụng các kỹ thuật tiên tiến chẩn đoán tiền làm tổ đang được nghiên cứu tại Bệnh viện Quân Y 103, đã có những kết quả bước đầu [110] [111].

CHƯƠNG 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

104 bệnh nhân β -thalassemia và β -thalassemia/HbE vào điều trị tại Khoa Huyết học lâm sàng, Bệnh viện Nhi Trung ương trong thời gian 2010–3/2018 phù hợp với cỡ mẫu đã tính toán.

2.1.2. Tiêu chuẩn chẩn đoán

Chẩn đoán đối tượng nghiên cứu dựa vào lâm sàng, huyết học β -thalassemia nặng và trung gian :

- Lâm sàng: Có thiếu máu tan máu mạn tính, gan – lách to, biến dạng xương sọ, chậm tăng trưởng, từ nhẹ đến nặng tùy theo thể bệnh.

- Huyết học: Có thay đổi thành phần hemoglobin, HbF tăng, HbA2 bình thường hay tăng không quá 10%, HbA1 giảm hoặc không có.

- β -thalassemia/HbE:

- Lâm sàng: β -thalassemia nặng với mức độ khác nhau.

- Huyết học: HbF tăng, có nhiều HbE.

2.1.3. Tiêu chuẩn loại trừ khỏi nghiên cứu

- Bệnh nhi không bị bệnh β -thalassemia: Thành phần hemoglobin bình thường.

- Người bệnh từ chối không tham gia.

2.1.4. Cỡ mẫu cần nghiên cứu

Dùng công thức tính cỡ mẫu:

$$n \geq \frac{(1,96)^2}{d^2} p(1 - p)$$

n: Số mẫu tối thiểu phải nghiên cứu.

1.96: Giá trị lấy từ bảng phân phối chuẩn với mức có ý nghĩa nghiên cứu là $\alpha = 0.05$.

p: Giá trị ước lượng trong quần thể: dựa vào tần số loại đột biến đã phổ biến ở Việt Nam với CD 41 – 42 là 34.5 % [27], lấy p là 0.35

d: Độ sai số 0.1

$$n \geq \frac{(1,96)^2}{0,1^2} 0,35(1 - 0,35)$$

$$n \geq 87$$

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu chung

Phương pháp nghiên cứu ngang mô tả

2.2.2. Phương pháp lâm sàng

Khai thác bệnh sử, tiền sử gia đình và khám thực thể, do nghiên cứu sinh thực hiện cho tất cả đối tượng nghiên cứu, theo một mẫu thống nhất.

2.2.3. Xét nghiệm huyết học

Thực hiện tại Khoa xét nghiệm huyết học Bệnh viện Nhi trung ương.

- Hình thái hồng cầu được mô tả qua kính hiển vi thông thường.

- Các chỉ số hồng cầu như hemoglobin, hematocrit, số lượng hồng cầu, các chỉ số hồng cầu như thể tích trung bình hồng cầu (MCV), hemoglobin trung bình hồng cầu (MCH), nồng độ hemoglobin trung bình hồng cầu (MCHC), độ phân giải kích thước hồng cầu (RDW), số lượng bạch cầu, tiểu cầu thực hiện bằng máy Beckman Counter LH 786.

- Thành phần hemoglobin như HbA1, HbA2, HbF, HbE thực hiện bằng kỹ thuật sắc ký lỏng cao áp (HPLC), bằng máy Variant.

2.2.4. Xét nghiệm hóa sinh

Các xét nghiệm về chuyển hóa sắt như Ferritin, sắt huyết thanh, SGOT, SGPT, Ure, Creatinin tại Khoa hóa sinh, Bệnh viện Nhi trung ương.

2.2.5. Phát hiện và phân tích đột biến gen β -globin

Phát hiện và phân tích gen *HBB* gây β thalassemia được thực hiện tại

Khoa sinh học phân tử, Bệnh viện Nhi trung ương. Quy trình phát hiện đột biến gen ở đây đã được công nhận chất lượng BOA (Bureau of Accreditation), cấp chứng chỉ đạt tiêu chuẩn ISO 15189 : 2012.

- Thu thập mẫu máu và tách DNA từ máu ngoại biên bệnh nhân. Lấy 2ml máu ngoại biên từ tĩnh mạch, vô khuẩn và chống đông bằng EDTA 1,5mg/ml.

- Tách DNA tổng số từ máu ngoại vi, sử dụng bộ kit tách DNA thương mại QIA gen DNA blood miniket của Đức. DNA tổng số sau khi tách chiết được đo nồng độ và độ tinh sạch bằng máy Nano drop (Thermo). Nồng độ DNA tổng số > 30ng, độ tinh sạch 260/280 = 1,7 – 1,9.

- Kỹ thuật PCR phát hiện đột biến gen β -globin:

Kỹ thuật Multiplex ARMS-PCR là các kỹ thuật được thiết lập để xác định các đột biến điểm gen β -globin. Cho đến nay đã phát hiện trên 200 đột biến gen β -globin, bao gồm đột biến tác động đến từng bước phiên mã gen *HBB* (transcription of β -globin gene), tiến trình hoàn thiện RNA (RNA processing) và dịch mã RNA (RNA translation). Hầu hết đột biến gen *HBB* là đột biến điểm. Chúng tôi chọn 9 đột biến điểm thường gặp ở khu vực Đông Nam Á [112] để phát hiện sàng lọc bằng kỹ thuật Multiplex ARMS-PCR; đó là CD41/42 (-TCTT), CD17 (AAG→TAG), IVS 1-1 (G-T), -28 (A→G), IVS2.654 (C-T), CD71/72 (+A), IVS 1-5 (G-C), CD95 (+A) và HbE – CD26 (AAG – GAG).

9 đột biến này được chia thành 3 bước sàng lọc đồng thời.

Bước 1: Sàng lọc 4 đột biến CD41/42 (-TCTT), CD17 (AAG – TAG), IVS 1-1 (G-T) và -28 (A – G)

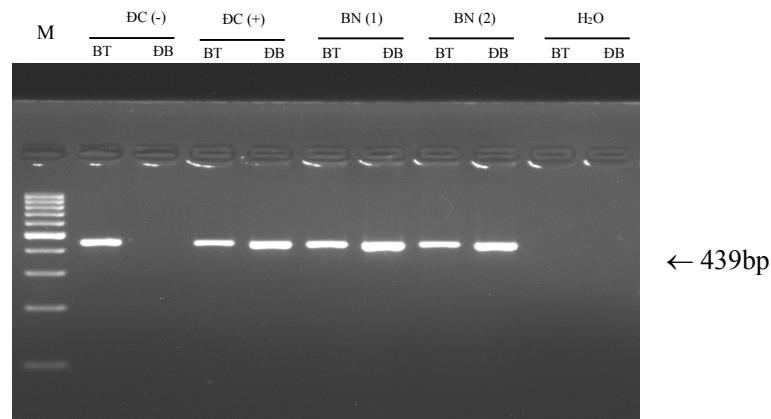
Bước 2: Sàng lọc 4 đột biến IVS 2- 654 (C – T), CD71/72 (+A), IVS 1-5 (G - C) và CD 95 (+A).

Bước 3: Sàng lọc đột biến HbE (AAG – GAG) – CD26.

Các đột biến được phát hiện qua Multiplex ARMS –PCR, kiểu gen được xác định bằng ARMS –PCR. Đột biến CD26 của HbE được phát hiện trực tiếp bằng ARMS –PCR, nếu thấy có HbE trên điện di Hb.

- Điện di DNA trên gel agarose 1% với dòng điện một chiều, điện thế 100v, cường độ dòng điện 60 – 80 mA, quan sát sự di chuyển của vệt màu bromophenol blue có trong đệm tra mẫu để ngừng chụp với thời gian thích hợp.

Sau đó nhuộm DNA bằng EtBr (nồng độ 1 μ g/ml) trong thời gian 20 phút trên máy lắc nhẹ. Quan sát và chụp ảnh Gel, dưới ánh sáng cực tím UV ở bước sóng 320 nm, sản phẩm DNA sẽ quan sát thấy dạng các vệt sáng



Hình 2.1. Sản phẩm DNA điện di trên gel agarose
(mang 1 đột biến gen CD41/42)

Được làm tại khoa di truyền phân tử Bệnh viện nhi Trung ương

M: Marker 100bp

H₂O: Mẫu nước không chứa DNA

ĐC (-): Mẫu chứng không có đột biến BT: Bình thường

ĐC (+): Mẫu chứng có đột biến ĐB: Đột biến

BN: Mẫu bệnh nhân

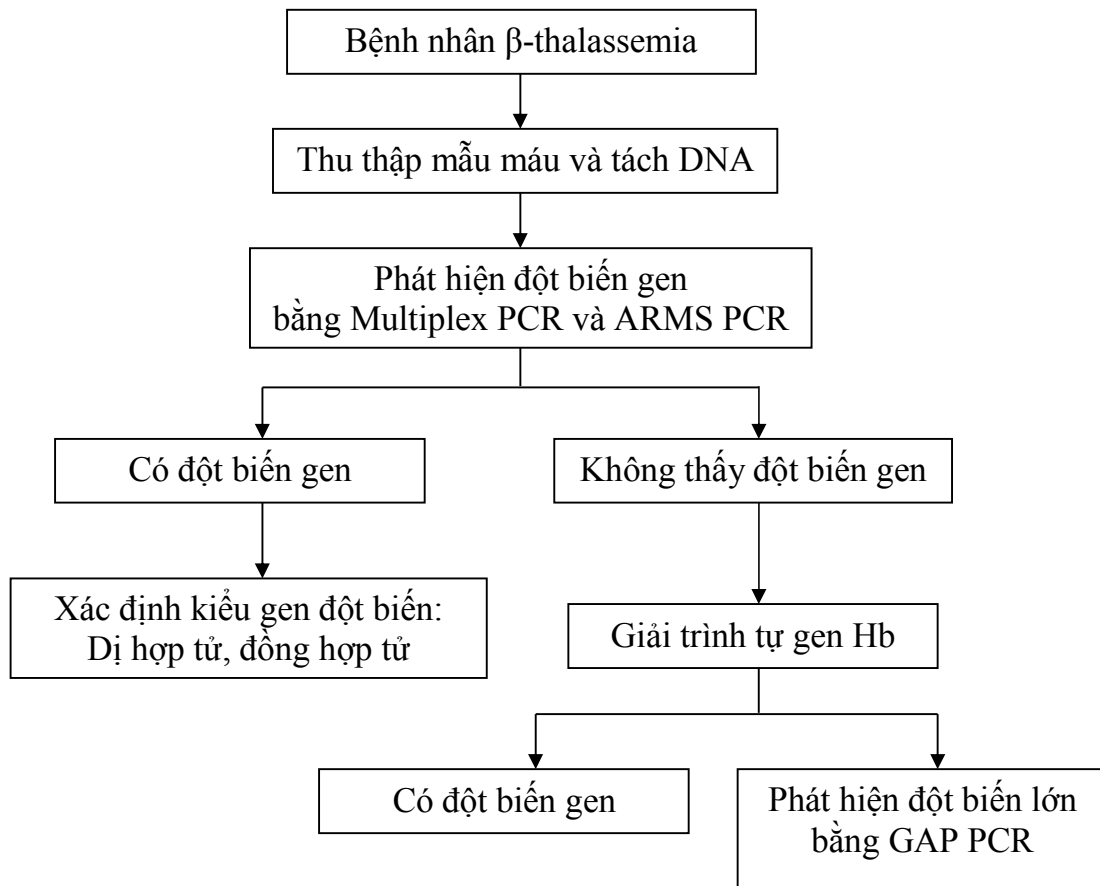
- Kỹ thuật giải trình tự gen, xác định đột biến gen β -globin:

Kỹ thuật này được tiến hành với các mẫu không phát hiện được đột biến gen bằng kỹ thuật Multiplex – PCR và ARMS – PCR (hình 2.1.). Quy trình thực hiện gồm 3 phản ứng PCR khuếch đại trình tự đoạn gen β -globin 1 (exon 1,2, một phần intron 2), đoạn gen β -globin 2 (intron 2), đoạn gen β -globin 3 (một phần intron 2 và exon 3) có kích thước tương ứng và sử dụng các cặp mồi thích hợp.

Phân tích dữ liệu thu được, so sánh với trình tự nucleotide và axit amin tham khảo của ngân hàng Gene Bank.

- Kỹ thuật GAP PCR: Là kỹ thuật sử dụng một môi xuôi, một môi ngược gắn ở hai bên ranh giới của cùng DNA đứt gãy, mục đích để phát hiện đột biến mất đoạn toàn bộ gen β -globin.

- Quy trình phát hiện đột biến gen *HBB* được trình bày trong sơ đồ sau:



Sơ đồ 2.1. Sơ đồ quy trình phát hiện đột biến gen β -globin

2.2.6. Nội dung nghiên cứu và tiêu chuẩn đánh giá

2.2.6.1. Dịch tễ học lâm sàng bệnh nhân nghiên cứu

- Số mẫu nghiên cứu: Nhiều hơn số lượng mẫu nghiên cứu theo công thức tính số mẫu cần thiết.

- Tuổi vào viện: 0 – 12 tháng
1 – 5 tuổi
5 – 10 tuổi
10 – 15 tuổi
> 15 tuổi

- Giới tính: Nam, nữ
- Dân tộc: Kinh, các dân tộc ít người.
- Địa phương cư trú: Hà Nội, các tỉnh.

2.2.6.2. Đặc điểm lâm sàng bệnh nhân nghiên cứu

- Lý do vào viện: Thiếu máu
Vàng da
Kiểm tra sức khỏe

- Tuổi biểu hiện bệnh đầu tiên: Do người nhà phát hiện, phân theo nhóm tuổi như tuổi vào viện.

- Triệu chứng biểu hiện bệnh đầu tiên: Do người nhà phát hiện.
- Triệu chứng khám thực thể khi vào viện: Do nghiên cứu sinh khám.

+ Thiếu máu: Biểu hiện da xanh, niêm mạc nhợt, hemoglobin dưới 120g/l. Đánh giá mức độ thiếu máu dựa vào nồng độ hemoglobin.

+ Vàng da: Khi thấy củng mạc mắt vàng.

+ Lách to: Khi sờ thấy lách dưới bờ sườn trái. Mức độ lách to: 1 – 5 cm là to vừa, từ 5 – 10 cm là lách to nhiều, trên 10 cm là rất to.

+ Gan to: Khi sờ thấy bờ dưới gan dưới bờ sườn phải, từ 1 – 5 cm là gan to vừa, trên 5 cm là to nhiều.

Biến dạng xương, dựa vào khám lâm sàng và X quang xương dài.

Bộ mặt Thalassemia: như hình ảnh hình 1.9, chụp sọ thấy xương sọ dày, có hình chân tóc, đầu to, trán dô, sống mũi tẹt.

Biểu hiện nhiễm sắt: da sạm, niêm mạc lưỡi, lợi chân răng sạm đen.

Xuất huyết dưới da, xuất huyết dạng chấm, nốt, bầm máu dưới da.

Đánh giá tăng trưởng: cân nặng, chiều cao, theo chuẩn tăng trưởng người Việt Nam, giảm từ -2SD là chậm tăng trưởng.

Tuổi bắt đầu phải truyền máu: dựa vào hồi cứu tiền sử bệnh, do người nhà cung cấp.

Số lần truyền máu/năm: dựa vào y bạ và người nhà cung cấp.

- Phân loại thể lâm sàng theo mức độ bệnh: Theo phân loại của Hiệp hội Thalassemia quốc tế 2003 [113] như bảng sau:

Bảng 2.1. Phân loại lâm sàng thalassemia

	Thể nặng	Thể trung gian	Thể nhẹ
* Lâm sàng			
Tuổi	< 2 tuổi	> 2 tuổi	Không triệu chứng. Thiếu máu nhẹ 0 → +
Lách to	++++ (rất to)	+++ → +++++ (to vừa → rất to)	(Không to, hơi to) 0
Vàng da	+++ (Rõ)	+ → +++ (Nhẹ → rõ)	0
Biến dạng xương	++++ (Rõ)	++ → +++++ (vừa → rõ)	0
Bộ mặt thalassemia	++ → +++++ (Vừa → rõ)	0 → +++ (không → rõ)	0
* Huyết học			
Hemoglobin (g/dl)	5-7	7 – 10	> 10 – 12
MCV (pg)	< 75	< 75	< 75
HbF (%)	> 50	10 – 50	0 – 10
HbA2 (%)	> 4	>4	> 3,5
* Bố, mẹ	Cả hai mang gen với HbA2 > 3,5%	Một hoặc cả hai mang gen HbA2 > 3,5% hoặc có Hb khác	
* Di truyền phân tử kiểu đột biến.	Nặng	Nhẹ/Ẩn	Nhẹ/Ẩn

Vì Thalassemia trung gian là một nhóm thalassemia rộng, mức độ nặng của bệnh rất khác nhau, giữa β -thalassemia nặng đến β -thalassemia nhẹ. Để có thể phân tích kỹ hơn, chúng tôi phân loại β -thalassemia trung gian thành 3 nhóm nhỏ khác nhau, theo phân loại của Shubba R.Phadke đề xuất như sau [114].

Bảng 2.2. Thang điểm phân loại β -thalassemia trung gian dựa vào lâm sàng và diễn biến bệnh

Kiểu hình	Điểm
1. Tuổi biểu hiện bệnh Dưới 6 tuổi 6 – 15 tuổi Trên 15 tuổi	2 1 0
2. Hemoglobin trung bình (g/dl) 6 – 7.5 7,5 – 9,5 > 9,5	2 1 0
3. Chậm tăng trưởng (chiều cao dưới bách phân vị 3) Có Không	2 0
4. Bộ mặt Thalassemia Rõ Nhẹ Không	2 1 0
5. Tuổi truyền máu đầu tiên < 6 tuổi 6 – 15 tuổi > 15 tuổi Không phải truyền máu	3 2 1 0
6. Số lần truyền máu/năm ≥ 2 1 hay < 1 lần/ năm Không	2 1 0
Nhóm I: 0 – 2 điểm Nhóm II: 3 – 6 điểm Nhóm III: 7 – 13 điểm	

2.2.6.3. Đặc điểm về cận lâm sàng

- Huyết học:
- * Số lượng hồng cầu (T/l)
- * Số lượng Hemoglobin (g/l)

Thiếu máu nhẹ: Hb: 91 – 120 g/l

Thiếu máu vừa: Hb: 60 – 90 g/l

Thiếu máu nặng: Hb: < 60 g/l

* Hematocrit (%)

* MCV (fl): Hồng cầu nhỏ khi MCV < 80fl, to khi MCV > 120 fl.

* MCH (pg): Hồng cầu nhược sắc khi MCH < 27 pg.

* RDW: càng lớn, kích thước hồng cầu càng to nhỏ không đồng đều.

* Số lượng bạch cầu (G/l) giảm khi < 5 G/l, tăng khi > 12 G/l.

* Số lượng tiểu cầu (G/l) giảm khi < 50 G/l, tăng khi > 300 G/l.

* Thành phần Hb (%): HbA1
HbA2
HbF
Hb khác

- Sinh hóa:

* Ferritin: ng/dl

* Sắt huyết thanh: mg/dl

* Chức năng gan: SGOT, SGPT đơn vị /dl

* Chức năng thận: Ure, Creatinin mg/dl

2.2.6.4. Đột biến gen β -globin

* Số mẫu phát hiện đột biến

* Các đột biến phát hiện, xếp theo thứ tự phổ biến

* Phân bố các đột biến theo phân loại của Hiệp hội Thalassemia quốc tế:

- Phân bố theo vị trí đột biến

Vùng khởi động

Exon 1

Intron 1

Exon 2

Intron 2

- Phân bố đột biến theo chức năng gen:

Đột biến phiên mã,

Đột biến tiến trình hoàn thiện RNA

Đột biến dịch mã RNA

- Phân bố đột biến theo kiểu gen : đồng hợp tử, dị hợp tử kép, dị hợp tử phối hợp với Hb khác.

- Phân bố đột biến theo dân tộc

* Liên quan giữa kiểu gen – kiểu hình lâm sàng, huyết học, bản cách :

- Đối chiếu các đột biến với thể bệnh lâm sàng.

- Đối chiếu các đột biến với mức độ bệnh.

- Đối chiếu kiểu gen đột biến với mức độ bệnh,

- Đối chiếu kiểu gen – kiểu hình lâm sàng thể nặng và trung gian,.

- Đối chiếu kiểu gen với các chỉ số hồng cầu thể nặng và trung gian,.

- Đối chiếu kiểu gen với thành phần hemoglobin thể nặng và trung gian.

2.2.7. Phương pháp thu thập số liệu

Các số liệu thu thập phải tuân thủ các yêu cầu:

- Các bệnh nhân nghiên cứu được chẩn đoán theo đúng tiêu chuẩn

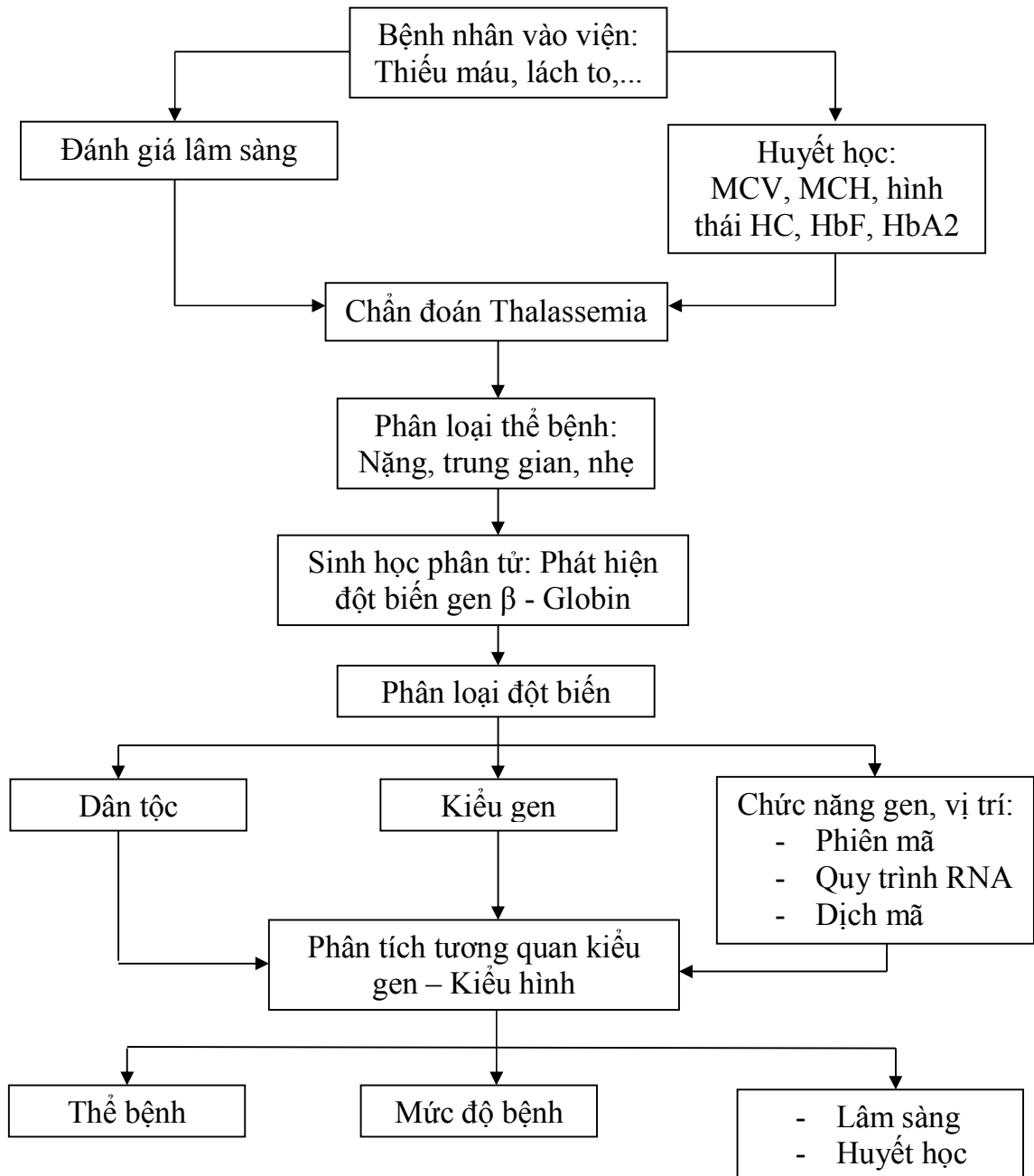
- Đánh giá lâm sàng, hỏi bệnh, khám thực thể do trực tiếp nghiên cứu sinh tiến hành, theo mẫu thu thập thống nhất.

- Các biến nghiên cứu về huyết học, hóa sinh, sinh học phân tử được thực hiện tại Bệnh viện Nhi trung ương, có hội chẩn với các phòng xét nghiệm có uy tín, và được thực hiện đầy đủ cho bệnh nhân nghiên cứu, theo mẫu thu thập thống nhất.

2.2.8. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu thu thập theo phiếu nghiên cứu, được xử lý trên phần mềm Epidata 3.1 với các thuật toán thống kê y học, phân tích giá trị trung bình, độ lệch chuẩn. So sánh số liệu bằng thuật toán X^2 và t student, với độ tin cậy > 95%. Xử lý số liệu tại Phòng tổng hợp, Viện nghiên cứu sức khỏe trẻ em.

2.2.9. Sơ đồ nghiên cứu



Sơ đồ 2.2. Sơ đồ nghiên cứu

2.3. Đạo đức nghiên cứu

Đề tài nghiên cứu không vi phạm y đức nghiên cứu:

- Mục tiêu của đề tài nhằm nâng cao chất lượng chẩn đoán, điều trị, đặc biệt giúp ích cho việc dự phòng, chẩn đoán trước sinh bệnh, phù hợp và bắt kịp trình độ tiên tiến quốc tế.

- Các thủ thuật khám xét, đánh giá, xét nghiệm bảo đảm an toàn, cũng là kỹ thuật áp dụng trong chẩn đoán, điều trị, quy trình theo dõi cho bệnh nhân.

- Kết quả thu được chỉ để nghiên cứu, phục vụ điều trị, không có mục đích nào khác.

- Chi phí nghiên cứu không ảnh hưởng gì đến gia đình bệnh nhân.

- Được Hội đồng y đức Bệnh viện cho phép.

CHƯƠNG 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kiểu hình lâm sàng, huyết học β -Thalassemia

Trong thời gian từ 2010 đến 3/2018 chúng tôi đã tiếp nhận 104 bệnh nhân vào điều trị tại Khoa huyết học lâm sàng, Bệnh viện Nhi trung ương; đủ tiêu chuẩn chẩn đoán đưa vào nghiên cứu, gồm 55 bệnh nhân β -thalassemia và 49 bệnh nhân β -thalassemia/HbE.

3.1.1. Một số đặc điểm dịch tễ học lâm sàng

* Tuổi và giới

Bảng 3.1. Tuổi và giới bệnh nhân nghiên cứu

Giới Nhóm tuổi	Nam n (%)	Nữ n (%)	Tổng n (%)
0 – 1	30 (50,8)	20 (44,4)	50 (48,1)
> 1 – 5	19 (32,2)	20 (44,4)	39 (37,5)
> 5 – 10	9 (15,3)	3 (6,7)	12 (11,5)
> 10 – 15	1 (1,7)	2 (4,4)	3 (2,9)
Cộng	59 (100)	45 (100)	104 (100)

Nhận xét:

- Bệnh nhân vào viện phần lớn là trẻ dưới 5 tuổi (89/104 bệnh nhân 85,6%), trong đó hơn nửa là trẻ dưới 1 tuổi (50/89); tiếp theo là trẻ 5-10 tuổi (chỉ có 12/104 bệnh nhân 11,5%), rất ít là trẻ 10 – 15 tuổi. (chỉ có 3/104 bệnh nhân 2,9%).

- Tỷ lệ nam/nữ là 59/45 (1,3/1)

* Dân tộc:

Bảng 3.2. Phân bố bệnh nhân nghiên cứu theo dân tộc

Dân tộc	Số bệnh nhân	Tỷ lệ %
Kinh	71	68,3
Thái	12	11,5
Tày	10	9,6
Dân tộc khác	11	10,6
Mường	4	
Nùng	3	
Sán Dìu	2	
Dao	1	
Bố Y	1	
Cộng	104	100.0

Nhận xét:

- Bệnh nhân dân tộc Kinh là 71 với tỷ lệ 68.3%
- Bệnh nhân là các dân tộc ít người chiếm 31,7%, trong đó dân tộc Thái là 12 (11,5%), dân tộc Tày là 10 (9,6%), còn lại là 5 dân tộc khác (Mường, Sán Dìu, Dao, Bố Y) tỷ lệ 10,6%

* Địa phương:

Trong số 104 bệnh nhân nghiên cứu, bệnh nhân cư trú tại Hà Nội nhiều nhất là 14 (13,5%), còn lại ở rải rác trong 28 tỉnh và thành phố khác từ Hà Tĩnh trở ra đến biên giới phía bắc. Sau Hà Nội các tỉnh có số bệnh nhân nhiều là Sơn La (8 bệnh nhân), Bắc Giang (8 bệnh nhân), Yên Bái (8 bệnh nhân), Nam Định (7 bệnh nhân), Tuyên Quang (5 bệnh nhân), Lạng Sơn (5 bệnh nhân), Lào Cai (5 bệnh nhân), Phú Thọ (5 bệnh nhân), Thanh Hóa (5 bệnh nhân), Nghệ An (5 bệnh nhân), còn các tỉnh khác, mỗi tỉnh từ 1- 4 bệnh nhân.

3.1.2. Đặc điểm kiểu hình lâm sàng bệnh nhân β -thalassemia

Chúng tôi đánh giá lâm sàng theo ba nhóm: β – thalassemia đơn thuần, β – thalassemia/HbE và chung cho cả hai nhóm.

Bảng 3.3. Lý do bệnh nhân vào viện

Triệu chứng	β – thalassemia		β – thalassemia/HbE		Toàn bộ β – thalassemia	
	n	%	n	%	n	%
Thiếu máu	54	98,2	45	91,8	99	95,2
Vàng da	1	1,8	1	2,1	2	1,9
Kiểm tra SK	-		3	6,1	3	2,9
Cộng	55	(100)	49	(100)	104	(100)

Nhận xét:

- Hầu hết bệnh nhân đến khám bệnh để vào viện là thiếu máu (95,2%)
- Có 3 bệnh nhân đến viện vì đi khám sức khỏe phát hiện thấy hồng cầu nhỏ, nhược sắc.

Bảng 3.4. Tuổi phát hiện bệnh đầu tiên

Tuổi	β -thalassemia		β -thalassemia/HbE		Toàn bộ β -thalassemia	
	n	%	n	%	n	%
0 – 1 tuổi	41	74,6	17	34,7	58	55,7
1 – 5 tuổi	12	21,8	22	44,9	34	32,7
5 – 10 tuổi	1	1,8	5	10,2	6	5,8
10 – 15 tuổi	1	1,8	5	10,2	6	5,8
Cộng	55	(100)	49	(100)	104	(100)

Nhận xét:

- Bệnh nhân β -thalassemia biểu hiện bệnh sớm, 88,4% dưới 5 tuổi, nhất là đa số biểu hiện sớm dưới 1 tuổi (55,7%).
- β -thalassemia biểu hiện bệnh sớm hơn β -thalassemia/HbE, đa số lúc dưới 1 tuổi (74,6%); 21,8% từ 1 – 5 tuổi; 3,6% từ 5 – 15 tuổi. Trong khi đó đối với β -thalassemia/HbE đa số biểu hiện bệnh chậm hơn, 44,9% từ 1 – 5 tuổi, chỉ có 34,7% dưới 1 tuổi, và 20,4% từ 5 – 15 tuổi.

Bảng 3.5. Triệu chứng lâm sàng khi vào viện

Triệu chứng lâm sàng	β -thalassemia (n = 55)		β -thalassemia/HbE (n = 49)		Toàn bộ β -thalassemia (n = 104)	
	n	%	n	%	n	%
Thiếu máu	55	100	49	100	104	100
Vàng da	7	12,7	14	28,5	21	20,2
Lách to	48	87,3	36	73,5	84	80,8
+ Từ 1 – 5cm	35	72,9	30	83,3	65	77,4
+ Từ 6 – 10cm	12	25	6	16,7	18	21,4
> 10cm	1	2,1	0	0	1	1,2
Gan to	35	63,6	24	49,0	59	56,7
+ Từ 1 – 5cm	34	97,1	23	95,8	57	96,6
+ Từ 6 – 10cm	1	2,9	1	4,2	2	3,4
Biến dạng xương dài	19	34,5	11	22,4	30	28,8
Bộ mặt thalassemia	32	58,2	21	42,9	53	51
Da sạm xỉn	14	25,5	4	8,2	18	17,3
Niêm mạc lợi răng sạm đen	8	14,5	2	1,5	10	9,6

Nhận xét:

- Triệu chứng lâm sàng khi vào viện rất phong phú: 100% có thiếu máu, 20,2% có vàng da, 80,8% có lách to, 51 % có biến dạng xương, có bộ mặt thalassemia, 56,7% gan to, 17,3% có biểu hiện da sạm xỉn và 9,6% có niêm mạc lợi sạm đen.

- Triệu chứng lâm sàng β – thalassemia và β thalassemia/HbE khá giống nhau với mức độ khác nhau.

Đánh giá sự tăng trưởng thể chất của trẻ β – thalassemia, dựa vào chỉ số tăng trưởng chiều cao, cân nặng, kết quả như sau:

Bảng 3.6. Sự tăng trưởng thể chất của trẻ β – thalassemia

Chỉ số tăng trưởng	β -thalassemia		β -thalassemia/HbE		Toàn bộ β -thalass..	
	n	%	n	%	n	%
Cân nặng						
- Bình thường	20	36,4	20	40,8	40	38,5
- Giảm 1 SD	22	40	17	34,7	39	37,5
- Giảm 2 SD	13	23,6	12	24,5	25	24,0
Chiều cao						
- Bình thường	23	41,8	17	34,7	40	38,5
- Giảm 1 SD	20	36,4	20	40,8	40	38,5
- Giảm 2 SD	12	21,8	12	24,5	24	23,0
Cộng	55	100.0	49	100.0	104	100.0

Nhận xét:

- Trẻ β -thalassemia bị chậm tăng trưởng cả về cân nặng và chiều cao so với chỉ tiêu sinh học trẻ em Việt Nam bình thường, 37,5% giảm 1 độ lệch chuẩn và 24% giảm 2 độ lệch chuẩn.

- Sự chậm tăng trưởng ở trẻ β -thalassemia và β -thalassemia/HbE tương tự như nhau ($p > 0,05$).

Trong 104 bệnh nhân có 94 bệnh nhân đã từng được truyền máu, tuổi bắt đầu truyền máu và số lần truyền máu mỗi năm, được trình bày trong bảng 3.7 và 3.8 như sau:

Bảng 3.7. Tuổi bắt đầu phải truyền máu ở bệnh nhân β -thalassemia

Tuổi truyền máu	β -thalassemia		β -thalassemia/HbE		Toàn bộ β - thalassemia	
	n	%	n	%	n	%
Dưới 1 tuổi	34	65,4	10	23,8	44	46,8
1 – 3 tuổi	13	25	20	47,6	33	35,1
3 – 5 tuổi	4	7,7	8	19,1	12	12,8
> 5 tuổi	1	1,9	4	9,5	5	5,3
Sớm nhất	2 tháng		3 tháng		2 tháng	
Chậm nhất	8 tuổi		10 tuổi		10 tuổi	
Cộng	52	100.0	42	100.0	94	100.0

Nhân xét:

- Bệnh nhân β -thalassemia phải truyền máu sớm, 46,8% phải truyền máu sớm từ trước 1 tuổi, sớm nhất lúc 2 tháng, 81,9% từ trước 3 tuổi.

- Bệnh nhân β -thalassemia phải truyền máu sớm hơn β -thalassemia/HbE, 65,4% trước 1 tuổi với β -thalassemia, 23,8% trước 1 tuổi với β -thalassemia/HbE.

Bảng 3.8. Số lần truyền máu/năm ở bệnh nhân β -thalassemia

Số lần truyền máu/năm	β -thalassemia		β -thalassemia/HbE		Toàn bộ β -thalassemia	
	n	%	n	%	n	%
1 – 2 lần	4	7,7	6	14,3	10	10,6
3 – 5 lần	8	15,4	15	35,7	23	24,5
> 5 lần	40	76,9	21	50,0	61	64,9
Cộng	52	100,0	42	100,0	94	100,0

Nhân xét:

- Phần lớn bệnh nhân (64.9%) phải truyền máu trên 5 lần/năm.
 - Số lần truyền máu > 5 lần/năm ở bệnh nhân β -thalassemia nhiều hơn bệnh nhân β -thalassemia/HbE, 76,9% và 50,0%.

* Phân loại mức độ bệnh β -thalassemia

Bảng 3.9. Phân loại mức độ bệnh β -thalassemia nghiên cứu

Thể bệnh β – thalassemia	Thể nặng		Thể trung gian		Thể nhẹ	
	n	%	n	%	n	%
β – thal. (n = 55)	48	87,3	6	10,9	1	1,8
β – thal./HbE (n = 49)	25	51,0	22	44,9	2	4,1
Cộng (n = 104)	73	70,2	28	26,9	3	2,9

Nhận xét:

- Phần lớn các trường hợp được chẩn đoán là β -thalassemia là thể nặng 87,3%, thể trung gian chỉ có 10,9%.

- Với β -thalassemia/HbE biểu hiện lâm sàng khá thay đổi, 51% là thể nặng, 44,9% là thể trung gian và 4,1% là thể nhẹ.

- Đa số bệnh nhân β -thalassemia nói chung trong nghiên cứu này là thể nặng (70,2%).

β -thalassemia trung gian được mô tả mức độ bệnh rất khác nhau, giữa β -thalassemia nặng và β -thalassemia nhẹ. Để phân tích β -thalassemia trung gian đầy đủ hơn, Shubha R. Phadke có đề xuất cách phân loại β -thalassemia trung gian thành 3 nhóm, dựa vào lâm sàng và diễn biến bệnh.

Dựa vào phân loại này chúng tôi phân loại β -thalassemia trung gian theo Phadke SR như sau:

Bảng 3.10. Phân loại mức độ bệnh β -thalassemia trung gian

β – thalassemia trung gian	Số lượng	(%)
Nhóm I	7	25
Nhóm II	5	17,9
Nhóm III	16	57,1
Cộng	28	100

Nhận xét:

- Đa số trường hợp β -thalassemia trung gian trong nghiên cứu này là nhóm III (57,1%), là nhóm nặng, lâm sàng gần giống β -thalassemia nặng hơn.

3.1.3. Cận lâm sàng

3.1.3.1. Đặc điểm về kiểu hình huyết học

Bảng 3.11. Số lượng tế bào máu ngoại biên

Tế bào máu ngoại biên	β -thalassemia (n = 55)	β - thalassemia/HbE (n = 49)	Toàn bộ β -thalassemia (n = 104)
Số lượng hồng cầu (T/l)			
Trung bình	2,53 \pm 0,73	3,15 \pm 0,87	2,85 \pm 0,88
Thấp nhất	1,14	1,46	1,14
Cao nhất	4,6	5,41	5,41
Số lượng bạch cầu (G/l)			
Trung bình	12,11 \pm 5,75	12,29 \pm 6,51	12,13 \pm 6,11
Thấp nhất	3,3	3,79	3,3
Cao nhất	31,84	31,53	31,53
Số lượng tiểu cầu (G/l)			
Trung bình	242,51 \pm 137,75	307,12 \pm 156,41	273,10 \pm 140,49
Thấp nhất	25	37	25
Cao nhất	608	936	936

Nhận xét:

- Số lượng hồng cầu giảm nhiều trong các thể β -thalassemia. Thể β -thalassemia giảm nhiều hơn β -thalassemia/HbE.

- Số lượng bạch cầu trong giới hạn bình thường với các thể β -thalassemia, song cũng có trường hợp số lượng bạch cầu cao tới 31,53 G/l.

- Số lượng tiểu cầu cũng dao động nhiều, tuy số lượng tiểu cầu trung bình trong giới hạn bình thường, nhưng cũng có trường hợp tiểu cầu giảm thấp, chỉ có 25 G/l; ngược lại lại có trường hợp tiểu cầu tăng tới 936 G/l.

Bảng 3.12. Lượng Hemoglobin và hematocrit ở bệnh nhân β -thalassemia nghiên cứu

Hemoglobin và Hematocrit	β-thalassemia (n = 55)	β-thalassemia/HbE (n = 49)	Toàn bộ β-thalassemia (n = 104)
Lượng Hb (g/l)			
Trung bình	60,77 \pm 16,56	69,08 \pm 20,40	65,50 \pm 10,28
Thấp nhất	25	31	25
Cao nhất	110	120	120
Hematocrit (%)			
Trung bình	18,23 \pm 4,73	21,52 \pm 6,26	20,05 \pm 5,92
Thấp nhất	7,5	9,35	7,5
Cao nhất	32,5	38	38

Nhận xét:

- Lượng hemoglobin trong bệnh β -thalassemia giảm nhiều, trung bình chỉ còn 65,5g/l, trường hợp thấp nhất chỉ còn 25g/l. Thể β -thalassemia hemoglobin giảm nhiều hơn β -thalassemia/HbE, lượng Hb trung bình lần lượt là 60,77 g/l và 69,0 g/l.

- Tương tự như lượng Hb, Hematocrit giảm nhiều, trung bình chỉ còn 20 %, thấp nhất chỉ có 7,5%, hematocrit của β -thalassemia cũng thấp hơn β -thalassemia/HbE, lần lượt là 18,23 % và 21,52%.

Đánh giá mức độ thiếu máu dựa vào lượng Hb g/l, thiếu máu nhẹ khi Hb từ 90 – 120 g/l, thiếu máu vừa Hb từ 60 – 90 g/l, thiếu máu nặng khi Hb giảm dưới 60 g/l. Kết quả phân loại mức độ thiếu máu theo hai thể β -thalassemia như bảng 3.13 sau đây.

Bảng 3.13. Mức độ thiếu máu ở bệnh nhân β -thalassemia trong nghiên cứu

Mức độ thiếu máu	β -thalassemia		β -thalassemia/HbE		Toàn bộ β -thalassemia	
	n	%	n	%	n	%
Thiếu máu nhẹ	3	5,5	6	12,2	9	8,6
Thiếu máu vừa	25	45,5	27	55,1	52	50,0
Thiếu máu nặng	27	49	16	32,7	43	41,4
Cộng (n = 104)	55	100	49	100	104	100

Nhận xét:

- Hầu hết bệnh nhân β -thalassemia bị thiếu máu từ vừa đến nặng, 50% thiếu máu vừa, 41,4% thiếu máu nặng.

- Tỷ lệ thiếu máu nặng trong β -thalassemia nhiều hơn β -thalassemia/HbE, 49% với 32,7%. Tỷ lệ thiếu máu vừa và nhẹ trong β -thalassemia/HbE nhiều hơn trong β -thalassemia, 55,1% và 12,2% với 45,5% và 5,5%.

Các chỉ số hồng cầu như thể tích trung bình hồng cầu (MCV), hemoglobin trung bình hồng cầu (MCH), cũng như thành phần hemoglobin có ý nghĩa lớn trong chẩn đoán, cũng như sàng lọc β -thalassemia. Các chỉ số hồng cầu trong nghiên cứu này được trình bày trong các bảng sau đây.

Bảng 3.14. Các chỉ số về hồng cầu bệnh nhi β -thalassemia nghiên cứu

Chỉ số hồng cầu	β -thalassemia	β -thalassemia/HbE	Toàn bộ β -thalass..
TTTBHC (MCV fl)			
Trung bình	74,18 \pm 6,42	66,88 \pm 8,07	70,77 \pm 8,07
Nhỏ nhất	60,0	48,9	52,9
To nhất	85,8	87,1	86,4
HbTBHC (MCH pg)			
Trung bình	24,68 \pm 3,29	21,23 \pm 3,23	23,08 \pm 3,64
Thấp nhất	17,3	14,1	15,8
Cao nhất	32,7	28,4	29,7
NĐHbHC (MCHC %)			
Trung bình	324,05 \pm 30,21	310,65 \pm 25,22	318,16 \pm 28,17
Thấp nhất	239	260	239
Cao nhất	362	373	373
DPBHC (RDW)			
Trung bình	23,11 \pm 3,7	24,40 \pm 2,85	23,78 \pm 3,39
Thấp nhất	13,4	18,2	13,4
Cao nhất	29,2	26,7	29,7

Nhận xét:

- Thể tích trung bình hồng cầu (MCV) nhỏ rõ rệt, trung bình là 70,77 fl, nhỏ nhất chỉ là 52,9 fl. TTTBHC ở β -thalassemia/HbE có phần nhỏ hơn ở β -thalassemia.

- Hemoglobin trung bình hồng cầu (MCH) giảm rõ rệt, chỉ có 23,08 pg, ít nhất là 15,8 pg. MCH ở β -thalassemia và β -thalassemia/HbE giảm như nhau.

- Nồng độ hemoglobin hồng cầu (MCHC) trong giới hạn bình thường, trung bình 318,16%.

- Dải phân bố hồng cầu (RDW) trung bình là 23,78 \pm 3,39 chứng tỏ hồng cầu không đều, to nhỏ khác nhau.

Thành phần hemoglobin có ý nghĩa quan trọng để chẩn đoán các thể bệnh β -thalassemia khi chưa có xét nghiệm sinh học phân tử về đột biến gen. Thành phần hemoglobin trong nghiên cứu này được trình bày trong bảng sau:

Bảng 3.15. Thành phần hemoglobin ở các thể β -thalassemia

Thành phần Hb (%)	β -thalassemia (n = 55)	β - thalassemia/HbE (n = 49)	Toàn bộ β -thalassemia (n = 104)
HbA ₁			
Trung bình	36,04 ± 26,21	34,06 ± 28,82	35,03 ± 27,30
Thấp nhất	0	0	0
Cao nhất	78,2	61,5	78,2
HbA ₂			
Trung bình	3,88 ± 5,20	3,92 ± 4,80	3,90 ± 4,96
Thấp nhất	1,4	1,8	1,4
Cao nhất	7,9	7,2	7,9
HbF			
Trung bình	47,83 ± 30,52	37,12 ± 18,50	40,52 ± 20,60
Thấp nhất	14,0	6,8	6,8
Cao nhất	95,0	85,2	95
HbE			
Trung bình	-	40,32 ± 17,30	18,36 ± 10,60
Thấp nhất	-	12	12
Cao nhất	-	63,1	63,1

Nhận xét:

- Thành phần hemoglobin ở bệnh nhân β -thalassemia thay đổi rất nhiều, khá đặc hiệu cho từng thể β -thalassemia.

- Với bệnh nhân β -thalassemia nặng phải vào viện điều trị có HbA₁ giảm nhiều, trung bình chỉ còn 36,04 ± 26,2%, thấp nhất là 0% (không còn HbA₁), HbF tăng cao, trung bình là 47,33 ± 30,52%, cao nhất tới 95% lượng hemoglobin toàn phần, còn HbA₂ có thể bình thường hoặc tăng, trung bình là 3,88 ± 5,20%, nhưng cao nhất chỉ có 7,9%.

- Với β -thalassemia/HbE, HbA₁ giảm nhiều, trung bình chỉ là $34.06 \pm 28,82\%$, thậm chí là không còn HbA₁; còn HbF cũng tăng cao, trung bình là $37,12 \pm 18,50\%$, cao nhất là $85,2\%$; đặc biệt có nhiều HbE, lượng HbE trung bình là $40,32 \pm 17,30$, cao nhất tới $63,1\%$ Hb toàn phần.

3.1.3.2. Đặc điểm về hóa sinh

Hậu quả khá nặng nề với β -thalassemia là tình trạng nhiễm sắt. Để đánh giá tình trạng nhiễm sắt, chúng tôi định lượng Ferritin và sắt huyết thanh.

Bảng 3.16. Một số chỉ số về chuyển hóa sắt ở bệnh nhân β -thalassemia

Chỉ số về chuyển hóa sắt	β-thalassemia	β-thalassemia/HbE	Toàn bộ β-thal
Ferritin (ng/ml)			
Trung bình	$2788,6 \pm 2583,1$	$1603,2 \pm 1489,3$	$2238,1 \pm 2120,9$
Thấp nhất	88,6	92	88,6
Cao nhất	9114,4	14414	14414
Fe huyết thanh ($\mu\text{mol/L}$)			
Trung bình	$28,64 \pm 17,04$	$32,67 \pm 16,39$	$29,11 \pm 17,38$
Thấp nhất	8,3	15	8,3
Cao nhất	59,5	56,7	59,5

Nhận xét:

- Bệnh nhân β -thalassemia vào viện trong nghiên cứu này đa số nhiễm sắt nặng. Lượng Ferritin huyết thanh khá cao, trung bình $2238,1 \pm 2129,9$ ng/dl

- Lượng Ferritin huyết thanh ở bệnh nhân β -thalassemia cao hơn bệnh nhân β -thalassemia/HbE.

- Lượng Fe huyết thanh không tăng rõ rệt.

Tình trạng nhiễm sắt nặng ở gan và các cơ quan khác có thể ảnh hưởng đến chức năng các cơ quan. Chúng tôi đánh giá một số chỉ số để đánh giá tổn thương gan, thận như sau:

Bảng 3.17. Một số chỉ số hóa sinh về gan, thận ở bệnh nhân β -thalassemia

Chỉ số sinh hóa	β -thalassemia (n = 55)	β - thalassemia/HbE (n = 49)	Toàn bộ β -thalassemia (n = 104)
GOT (U/L)			
Trung bình	65,55 \pm 41,8	71,58 \pm 49,78	69,40 \pm 57,71
Thấp nhất	5,62	13	5,62
Cao nhất	235	253	253
GPT (U/L)			
Trung bình	61,10 \pm 40,8	63,30 \pm 43,6	62,1 \pm 49,8
Thấp nhất	5	5,9	5
Cao nhất	207	381	381
Ure (mmol/L)			
Trung bình	3,68 \pm 1,29	4,43 \pm 1,2	4,11 \pm 1,29
Thấp nhất	1,6	1,02	1,02
Cao nhất	5,8	6,43	6,43
Creatinin (mmol/L)			
Trung bình	34,3 \pm 9,68	39,58 \pm 11,73	37,7 \pm 11,61
Thấp nhất	5,7	3,8	3,8
Cao nhất	52,6	72,5	72,5

Nhận xét:

- Lượng GOT, GPT trong β -thalassemia tăng vừa phải, trung bình 69,40 \pm 57,71 và 62,1 \pm 49,8 U/L.

- Urê, Creatinin còn trong giới hạn bình thường, trung bình là 4,11 \pm 1,29 và 37,7 \pm 11,61 mmol/L.

3.2. Kiểu gen ở bệnh nhi β -thalassemia

3.2.1. Các đột biến gen *HBB* phát hiện ở bệnh nhân β -thalassemia

Nghiên cứu đột biến gen *HBB* ở 104 bệnh nhân β -thalassemia đã phát hiện 208 alen đột biến với 13 dạng đột biến khác nhau. Tỷ lệ phát hiện đột biến ở 100% bệnh nhân nghiên cứu; các bệnh nhân đều có kết hợp 2 đột biến. Số lượng và tỷ lệ các loại đột biến được trình bày trong bảng 3.18 sau đây:

Bảng 3.18. Sự phân bố đột biến gen *HBB* ở bệnh nhân β -thalassemia

Đột biến gen β – globin ở β – thalassemia	Kiểu hình	Số lượng	Tỷ lệ %
CD41/42 (-TCTT)	β^0	63	30,3
CD 17 (AA – TAG)	β^0	62	30
CD26 (GAG – AAG)	β^+	49	23,5
CD71/72 (+ A)	β^0	10	4,8
IVS 2 -654 (C – T)	β^+	6	2,9
- 28 (A – G)	β^+	6	2,9
- 88 (C – T)	β^{++}	3	1,44
CD95 (TAC – TAA)	β^0	2	0,96
IVS 1 – 1 (G – T)	β^0	2	0,96
IVS 1- 5 (G – C)	β^0	2	0,96
Các đột biến hiếm gặp	β^+	3	1,44
-140 (C – T)		1	0,48
c.441-c442 ins AC		1	0,48
2.3kb – deletion		1	0,48
Tổng		208	100

Nhận xét:

- Đã phát hiện 208 alen đột biến ở gen *HBB* của 104 bệnh nhân nghiên cứu, mỗi bệnh nhân đều có kết hợp 2 đột biến. Tỷ lệ phát hiện đột biến là 100% bệnh nhân vào điều trị.

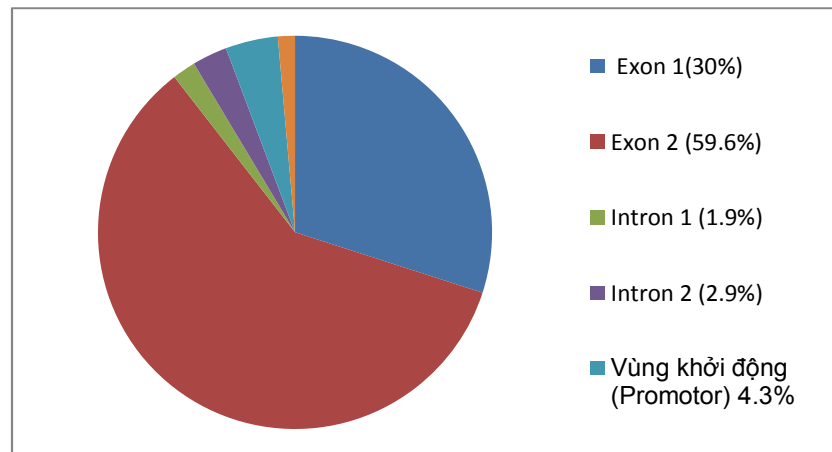
- Đã phát hiện được 13 loại đột biến, trong đó có 4 dạng đột biến phổ biến nhất là CD41/42 (-TCTT), CD 17 (AA – TAG), CD26 (GAG – AAG), CD71/72 (+ A) với tỷ lệ lần lượt là 30,3%, 30%, 23,5%, và 4,8%; 6 dạng đột biến ít phổ biến hơn là IVS 2 -654 (C – T), - 28 (A – G), - 88 (C – T), CD95 (TAC – TAA), IVS 1 – 1 (G – T), IVS 1- 5 (G – C), với tỷ lệ lần lượt là 2,9%, 2,9%, 1,44%, 0,96%, 0,96%, 0,96% và 3 đột biến hiếm gặp là -140 (C – T), c.441-c442 ins AC, 2.3kb-deletion, với tỷ lệ mỗi loại 0,48%.

- Hầu hết là loại đột biến không mất đoạn (non-deletion), chỉ có 1 đột biến mất đoạn là 2.3 kb del.

- Đa số đột biến có kiểu hình β^0 (68,1%) và β^E (23,5%), đột biến kiểu hình β^+ ít gặp hơn (8,6%).

3.2.2. Phân bố đột biến gen theo vị trí và chức năng gen

Phân bố các đột biến gen *HBB* đã phát hiện trên bệnh nhân β -thalassemia theo vị trí như hình 3.1 sau:



Hình 3.1. Phân bố đột biến gen β – globin theo vị trí

Nhận xét:

- Các đột biến phát hiện xảy ra ở nhiều vị trí gen, phổ biến nhất ở exon 2 (124/208 - 59,6%), exon 1 (62/208 - 30%). Sau đó đến vùng khởi động (9/208 - 4,3%), intron 2 (6/208 -2,9%), intron 1 (4/208 - 1,9%),

Phân bố các đột biến gen *HBB* ở bệnh nhân β -thalassemia đã phát hiện theo chức năng như sau:

Bảng 3.19. Phân bố các đột biến gen HBB ở bệnh nhân β -thalassemia theo chức năng gen.

Chức năng gen	Số lượng	Tỷ lệ %
Đột biến phiên mã (Transcriptional mutants) - Yếu tố điều hòa khởi động (Promotor regulatory elements) - 28 (A – G) - 88 (C – T)	9	4,3
Đột biến tiến trình hoàn thiện RNA (RNA processing) - Vị trí đầu kết nối (Splice junction) IVS 1 – 1 (G – T) IVS 1 – 5 (G – C) IVS 2 – 654 (C – T)	10	4,8
Đột biến dịch mã RNA (RNA translation) - Codon vô nghĩa (Nonsense codon) CD17 (AAG – TAG) CD26 (GAG – AAG) CD95 (TAC – TAA) - Dịch khung (Frameshift) CD41/42 (- TTCT) CD71/72 (+A)	186	89,4
Đột biến ít gặp khác	3	1,4
Cộng	208	100

Nhận xét:

- Đa số đột biến liên quan đến giai đoạn dịch mã RNA (89,4%), ít hơn ở giai đoạn tiến trình hoàn thiện RNA (4,8%) và giai đoạn phiên mã (4,3%).

3.2.3. Phân bố đột biến gen HBB theo kiểu gen

Trong nghiên cứu này, cả 104 bệnh nhân đều phát hiện có đột biến, mỗi bệnh nhân đều phát hiện 2 dạng đột biến phối hợp thành các kiểu gen đồng hợp tử và dị hợp tử kép $\beta^0\beta^0$, $\beta^+\beta^+$; dị hợp tử kép $\beta^0\beta^+$, dị hợp tử phối hợp HbE với kiểu gen $\beta^0\beta^E$, $\beta^+\beta^E$. Phân bố các đột biến theo kiểu gen được trình bày trong bảng 3.20. như sau:

Bảng 3.20. Phân bố đột biến gen HBB theo kiểu gen ở bệnh nhân β -thalassemia

Kiểu gen	Kiểu gen phối hợp đột biến	Số bệnh nhân	Tỷ lệ %
$\beta^0\beta^0$	- Kiểu đồng hợp tử	40	38,46
	CD41/42 – CD41/42	9	8,7
	CD17 – CD17	8	7,7
	- Dị hợp tử kép 2 đột biến:		
	CD41/42 – CD17	15	14,4
	CD17 – CD71/72	3	2,9
	CD41/42 – CD71/72	3	2,9
	CD41/42 – CD95	1	0,96
	CD41/42 – IVS 1 – 5	1	0,96
$\beta^+\beta^+$	- Dị hợp tử kép 2 đột biến	1	0,96
	IVS 2 – 654 – 2.3 kb del	1	0,96
$\beta^0\beta^+$	- Dị hợp tử kép 2 đột biến	14	13,46
	- 28 – CD17	3	2,9
	- 28 – CD41/42	2	1,9
	- 88 – CD41/42	2	1,9
	CD17 – IVS 2 – 654	2	1,9
	CD41/42 – IVS 2 – 654	1	0,96

	CD71/72 – IVS 2- 654	1	0,96
	IVS 1 – 1 – IVS 2 -654	1	0,96
	- 140 – CD17	1	0,96
	CD17 – c.441-c442 ins AC	1	0,96
$\beta^0 \beta^E$	- Dị hợp tử phối hợp HbE	47	45,2
	CD17 – CD26	21	20,2
	CD41/42 – CD26	20	19,2
	CD71/72 – CD26	3	2,9
	IVS 1 – 1 – CD26	1	0,96
	IVS 1 – 5 – CD26	1	0,96
	CD95 – CD26	1	0,96
$\beta^+ \beta^E$	- Dị hợp tử phối hợp HbE	2	1,92
	- 28 – CD26	1	0,96
	- 88 – CD26	1	0,96

Nhận xét:

- Đã phát hiện 25 kiểu gen phối hợp đột biến ở 104 β -thalassemia nghiên cứu
- Kiểu gen $\beta^0 \beta^0$ có 40 bệnh nhân, tỷ lệ 38,46% trong đó có 17 bệnh nhân đồng hợp tử với 2 kiểu phối hợp đột biến là CD41/42-CD41/42, CD17-CD17, và 23 bệnh nhân dị hợp tử kép 2 đột biến với 5 kiểu phối hợp đột biến là CD41/42 – CD17, CD17 – CD71/72, CD41/42 – CD71/72, CD41/42 – CD95, CD41/42 – IVS 1-5.
- Kiểu gen $\beta^+ \beta^+$ có 1 bệnh nhân, tỷ lệ 0.96% là dị hợp tử kép 2 đột biến với kiểu phối hợp đột biến IVS2 – 654 – 2.3 kb del.
- Kiểu gen $\beta^0 \beta^+$ có 14 bệnh nhân, tỷ lệ 13,46% là dị hợp tử kép 2 đột biến, với 9 kiểu phối hợp đột biến, bao gồm – 28 – CD17, – 28 – CD41/42, - 88 – CD41/42, CD17 – IVS2.654, CD41/42 – IVS2.654, CD71/72 – IVS2.654, IVS 1-1 – IVS2.654, - 140 – CD17, CD71/72 – c.441-c442 ins AC.

- Kiểu gen $\beta^0\beta^E$ có 47 bệnh nhân, tỷ lệ 45,2% là dị hợp tử phối hợp HbE, với 6 kiểu gen, bao gồm CD17 – CD26, CD41/42 – CD26, CD71/72 – CD26, IVS 1-1 – CD26, IVS 1-5 – CD26, CD95 – CD26.

- Kiểu gen $\beta^+\beta^E$ có 2 bệnh nhân, tỷ lệ 1,92% là dị hợp tử phối hợp HbE với 2 kiểu gen, gồm – 28 – CD26 và – 88 – CD26.

3.2.4. Phân bố đột biến gen β -thalassemia theo dân tộc

Trong 104 bệnh nhân nghiên cứu, 71 bệnh nhân là dân tộc Kinh, 12 bệnh nhân là dân tộc Thái, 10 bệnh nhân là dân tộc Tày, 4 bệnh nhân là dân tộc Mường, 3 bệnh nhân là dân tộc Nùng, 2 bệnh nhân là dân tộc Sán Dìu, 1 bệnh nhân là dân tộc Dao, 1 bệnh nhân là dân tộc Bồ Y.

Bảng 3.21. Phân bố đột biến gen HBB ở bệnh nhân β -thalassemia theo các dân tộc

Đột biến gen β – globin	Kinh		Tày		Thái		Dân tộc khác (Mường, Nùng, Sán Dìu, Dao, Bồ Y)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
CD41/42 (-TCTT)	43	30,3	10	50,0	6	25,0	4	18,2
CD17 (AAG – TAG)	41	29,9	6	30,0	6	25,0	9	40,9
CD26 (GAG – AAG)	33	23,2	1	5,0	12	50,0	3	13,7
CD71/72 (+A)	8	5,6	1	5,0	0		1	4,5
IVS2.654 (C – T)	5	3,5	0		0		1	4,5
- 28 (A – G)	3	2,1	1	5,0	0		2	9,1
- 88 (C – T)	3	5,6	0		0		0	
CD95 (TAC – TAA)	2	1,4	0		0		0	
IVS 1-1 (G – T)	2	1,4	0		0		0	
IVS 1-5 (G – C)	1	0,7	0		0		1	4,5
Đột biến hiếm gặp	1	0,7	1	5,0	0		1	4,5
Cộng	142	100,0	20	100,0	24	100,0	22	100,0

Nhận xét:

- Cả 4 loại đột biến phổ biến là CD41/42, CD17, CD26, CD71/72 đều là các đột biến phổ biến ở các dân tộc.

- Các đột biến ít gặp hơn cũng là các đột biến ít gặp ở các dân tộc.

So sánh các đột biến phổ biến ở các dân tộc khác nhau được trình bày ở các bảng 3.22; 3.23; 3.24, như sau:

Bảng 3.22. So sánh một số đột biến phổ biến giữa dân tộc Kinh với dân tộc Tày

Đột biến gen β – globin	Kinh (n = 142)		Tày (n = 20)		p
	n	%	n	%	
CD41/42 (-TCTT)	43	30,3	10	50	0,068
CD17 (AAG – TAG)	41	29,9	6	30	0,55
CD26 (GAG – AAG)	33	23,2	1	5	0,036
CD71/72 (+A)	8	5,6	1	5	0,68
- 28 (A – G)	3	2,1	1	5	0,042
- 88 (C – T)	8	5,6	1	5	0,68

Nhận xét:

- Đột biến CD26 ở dân tộc Kinh nhiều hơn người dân tộc Tày.

- Đột biến -28 (A – G) ở dân tộc Tày có sự khác biệt với người dân tộc Kinh

- Các đột biến khác giữa dân tộc Kinh và Tày không khác nhau.

Bảng 3.23. So sánh đột biến phổ biến giữa dân tộc Kinh và dân tộc Thái.

Đột biến gen β – globin	Kinh (n = 142)		Thái (n = 24)		p
	n	%	n	%	
CD41/42 (-TCTT)	43	30,3	6	25	0,19
CD17 (AAG – TAG)	41	29,9	6	25	0,24
CD26 (GAG – AAG)	33	23,2	12	50	0,038

Nhận xét:

- Đột biến CD26 (GAG – AAG) ở dân tộc Thái nhiều hơn người Kinh
- Các đột biến CD41/42 và CD17 giữa dân tộc Kinh và Thái không khác biệt.

Bảng 3.24. So sánh đột biến gen phổ biến giữa dân tộc Tày và dân tộc Thái.

Đột biến gen β -globin	Tày (n = 20)		Thái (n = 24)		p
	n	%	n	%	
CD41/42 (-TCTT)	10	50	6	25	0,08
CD17 (AAG – TAG)	6	30	6	25	0,68
CD26 (GAG – AAG)	1	5	12	50	0,001

Nhận xét:

- Đột biến CD26 (GAG – AAG) ở dân tộc Thái nhiều hơn ở người dân tộc Tày.

- Các đột biến CD41/42 và CD17 giữa dân tộc Tày và Thái không khác nhau.

3.3. Đối chiếu kiểu gen-kiểu hình β - thalassemia**3.3.1. Đối chiếu giữa kiểu gen- kiểu hình lâm sàng theo mức độ bệnh**

Kết quả nghiên cứu đã phát hiện được 208 đột biến, có 13 dạng khác nhau, trên 104 bệnh nhân β -thalassemia và β -thalassemia/HbE. Đối chiếu các dạng đột biến với thể lâm sàng bệnh β -thalassemia như sau:

Bảng 3.25. Đối chiếu các đột biến gen HBB với thể lâm sàng β -thalassemia và β -thalassemia/HbE

Các đột biến	Số lượng	β -thalassemia		β -thalassemia/HbE	
		n	%	n	%
CD41/42	63	43	68,3	20	31,7
CD17	62	41	66,1	21	33,9
CD26	49	0	0	49	100
CD71/72	10	7	70	3	30
IVS2.654	6	6	100	0	0
-28	6	5	83	1	17
-88	3	2	67	1	13
CD95	2	1	50	1	50
IVS 1-1	2	1	50	1	50
IVS 1-5	2	1	50	1	50
-140	1	1	100	0	0
c.441-c442 ins AC	1	1	100	0	0
2.3 kb del	1	1	100	0	0
Cộng	208	110	52,9	98	47,1

Nhận xét:

- Hầu hết các dạng đột biến gặp ở cả hai thể lâm sàng, trừ CD26 chỉ liên quan đến HbE.

- Các đột biến CD41/42, CD17 và CD71/72 gặp nhiều cho thể bệnh β – thalassemia không phối hợp với HbE

Nghiên cứu sự phân bố các đột biến phát hiện với các thể lâm sàng theo mức độ bệnh để thấy sự liên quan giữa đột biến với thể lâm sàng, kết quả như bảng sau:

Bảng 3.26. Đối chiếu giữa đột biến gen HBB với thể bệnh theo mức độ nặng về lâm sàng

Các đột biến	Số lượng	Thể nặng		Thể trung gian		Thể nhẹ	
		n	%	n	%	n	%
CD41/42	63	51	81	12	19		
CD17	62	48	77,4	14	22,6		
CD26	49	25	51	22	44,9	2	4,1
CD71/72	10	9	90	1	10		
IVS2.654	6	3		2		1	
-28	6	4		1		1	
-88	3	-		2		1	
CD95	2	1		1			
IVS 1-1	2	1		1			
IVS 1-5	2	1		1			
-140	1	-		1			
c.441-c442 ins AC	1	-		1			
2.3 kb del	1	-		-		1	
Cộng	208	143	68,8	59	28,4	6	2,8

Nhận xét:

- Trong 208 alen đột biến phát hiện, phần lớn liên quan với thể lâm sàng nặng (68,8%), một phần liên quan với thể trung gian (28,4%), chỉ 2,8% liên quan với thể nhẹ.

- Các đột biến CD41/42, CD17, CD71/72 liên quan nhiều với thể lâm sàng nặng, lần lượt 81%; 77,4% và 90%. Các đột biến này chỉ có ở thể nặng và trung gian, không thấy ở thể nhẹ.

- Đột biến CD26 phân bố đều cho thể nặng, trung gian (51%, và 44,9%), chỉ 4,1% trong thể nhẹ.

- Các đột biến khác thấy ở cả thể nặng và trung gian.

- Các đột biến hiếm gặp chỉ thấy ở thể trung gian và nhẹ

Bảng 3.27. Đối chiếu các kiểu gen phối hợp đột biến với mức độ bệnh

Phối hợp đột biến	Số bệnh nhân	Thể nặng n	Thể trung gian n	Thể nhẹ n
CD17-CD26	21	10	11	
CD41/42-CD26	20	15	5	
CD41/42-CD17	15	13	2	
CD41/42-CD41/42	9	9		
CD17-CD17	8	8		
CD17-CD71/72	3	3		
CD141/42-CD71/72	3	2	1	
CD71/72-CD26	3	2	1	
-28-CD17	3	3		
-28-CD41/42	2	1	1	
-88-CD41/42	2	1	1	
CD17-IVS2-654	2	1	1	
CD41/42-CD95	1	1		
CD41/42-IVS1-5	1	1		
IVS2-654-2.3 kb deletion	1			1
CD41/42-IVS2-654	1	1		
CD71/72-IVS2-654	1	1		
IVS1-1-IVS2-654	1		1	
-140-CD17	1	1		
Cd17-c.441-c442 insAC	1			1
IVS1-1-CD26	1		1	
IVS1-5-CD26	1		1	
CD95-CD26	1		1	
-28-CD26	1		1	
-88-CD26	1			1
Cộng	104	73	28	3

Nhận xét:

- Có sự liên quan giữa kiểu gen phối hợp đột biến với mức độ bệnh
- Các đột biến phối hợp với đột biến CD17, CD41/42, CD71/72 thường tương ứng với thể bệnh nặng. Đồng hợp tử đột biến CD17, CD41/42 gây thể β -thalassemia nặng 100%

- Các đột biến phối hợp với đột biến CD26 có thể liên quan với thể bệnh β -thalassemia nặng hoặc trung gian, ít với thể nhẹ.

Đối chiếu kiểu gen với biểu hiện triệu chứng lâm sàng được trình bày trong bảng sau. Như bảng 3.20, trong nghiên cứu này đã phát hiện có 5 thể bệnh theo kiểu gen, gồm đồng hợp tử và dị hợp tử kép $\beta^0\beta^0$ (40 bệnh nhân), $\beta^+\beta^+$ (1 bệnh nhân), dị hợp tử kép $\beta^0\beta^+$ (14 bệnh nhân), dị hợp tử phối hợp với HbE là $\beta^0\beta^E$ (47 bệnh nhân), $\beta^+\beta^E$ (2 bệnh nhân). Đối chiếu kiểu gen với kiểu hình lâm sàng của ba kiểu gen có thể bệnh nặng và trung gian là $\beta^0\beta^0$, $\beta^0\beta^+$, $\beta^0\beta^E$ kết quả như sau.

Bảng 3.28. Đối chiếu kiểu gen với kiểu hình lâm sàng thể nặng và trung gian

Kiểu gen Biểu hiện lâm sàng	$\beta^0\beta^0$ (n = 40) (1)	$\beta^0\beta^+$ (n = 14) (2)	$\beta^0\beta^E$ (n = 47) (3)	p1-2	p1-3	p2-3
- Tuổi phát hiện bệnh (năm)	0,97 ± 1,22	1,28 ± 0,87	2,77 ± 0,72	0,01	0,001	0,067
Tuổi bắt đầu truyền máu (năm)	1 ± 0,4	1,32 ± 0,76	2,48 ± 2,1	0,01	0,001	0,11
Mức độ thiếu máu (%)						
- Nặng	50	28,6	29,8	0,03	0,03	0,56
- Trung bình	50	35,7	61,7			
- Nhẹ	-	35,7	8,5			
Lách to (%)	90	78,6	76,6	0,35	0,09	1,00
Gan to (%)	60	71,4	51	0,44	0,40	0,17
Biến dạng xương (%)	32,5	42,8	23,4	0,48	0,34	0,15
Chậm tăng trưởng (%)						
- Cân nặng	57,5	57,1	42,6	0,85	0,48	0,44
- Chiều cao	60	64,3	42,6	0,54	0,52	0,86

Nhận xét:

- Tuổi phát hiện bệnh xảy ra khác nhau ở nhóm có kiểu gen $\beta^0\beta^0$ với $\beta^0\beta^+$ và $\beta^0\beta^E$, lần lượt là 0,97 ± 1,22, 1,28 ± 0,87 và 2,77 ± 0,72 tuổi. Kiểu gen $\beta^0\beta^E$ tuổi phát bệnh chậm hơn.

- Tỷ lệ thiếu máu nặng ở nhóm kiểu gen $\beta^0\beta^0$ nhiều hơn nhóm kiểu gen $\beta^0\beta^+$ và $\beta^0\beta^E$ với tỷ lệ lần lượt là 50%, 28,6% và 29,3%.

- Nhóm bệnh có kiểu gen $\beta^0\beta^0$ phải truyền máu sớm nhất, sớm hơn nhóm bệnh $\beta^+\beta^+$ và $\beta^0\beta^E$ ($1 \pm 0,4$ với $1,32 \pm 0,76$ và $2,48 \pm 2,1$ tuổi).

- Các biểu hiện lâm sàng, như lách to, gan to, biến dạng xương, chậm tăng trưởng cân nặng và chiều cao đều rõ rệt ở cả các nhóm bệnh có kiểu gen $\beta^0\beta^0$, $\beta^0\beta^+$, $\beta^0\beta^E$ với mức độ tương tự nhau.

- Biểu hiện lâm sàng của nhóm bệnh có kiểu gen $\beta^0\beta^+$ và $\beta^0\beta^E$ tương tự nhau

3.3.2. Đối chiếu kiểu gen với chỉ số huyết học thể nặng và trung gian

Phân tích sự liên quan giữa kiểu gen *HBB* với một số chỉ số hồng cầu và thành phần hemoglobin được trình bày trong các bảng sau đây.

Bảng 3.29. Đối chiếu kiểu gen HBB với một số chỉ số hồng cầu thể nặng và trung gian

Chỉ số về hồng cầu	$\beta^0\beta^0$ (n = 40)	$\beta^0\beta^+$ (n = 14)	$\beta^0\beta^E$ (n = 47)
TTTBHC (MCV fl)	74,26 \pm 7,5	73,81 \pm 6,8	66,96 \pm 5,6
HbTBHC (MCH pg)	24,87 \pm 3,6	23,72 \pm 3,1	21,24 \pm 3,8
NĐHbHC (MCHC %)	368,25 \pm 4,2	312,88 \pm 5,6	309,77 \pm 6,2

Nhận xét:

- Tất cả các nhóm bệnh có kiểu gen $\beta^0\beta^0$, $\beta^0\beta^+$, $\beta^0\beta^E$ đều có biểu hiện MCV nhỏ hơn 75fl, MCH giảm dưới 25 pg.

- Các chỉ số hồng cầu như MCV, MCH, MCHC ở ba kiểu gen *HBB* nghiên cứu đều giảm tương đương nhau.

Thành phần hemoglobin khá đặc hiệu cho các thể bệnh β -thalassemia. Phân tích thành phần hemoglobin ở các nhóm bệnh có kiểu gen khác nhau, kết quả như sau.

Bảng 3.30. Đối chiếu kiểu gen với thành phần hemoglobin thể nặng và trung gian

Thành phần Hb (%)	$\beta^0\beta^0$ (n = 40)	$\beta^0\beta^+$ (n = 14)	$\beta^0\beta^E$ (n = 47)
HbA1	0	64,8 ± 15,2	0
HbA2	6,04 ± 2,1	3,68 ± 1,9	2,4 ± 1,6
HbF	94,5 ± 3,2	40,02 ± 14,3	51,9 ± 12,8
HbE	-	-	40,2 ± 11,5

Nhận xét:

- Với kiểu gen $\beta^0\beta^0$, HbA1 không còn, chủ yếu là HbF, HbF có tới 94,5 ± 3,2% Hb toàn phần, HbA2 hơi tăng, song dưới 10% Hb toàn phần.

- Với kiểu gen $\beta^0\beta^+$, có đủ cả ba thành phần Hb, HbA1 giảm, còn 64,8 ± 15,2%, HbF tăng có tới 40,02 ± 14,3%, HbA2 bình thường hay tăng nhẹ, trung bình 3,68 ± 1,9 Hb toàn phần.

- Với kiểu gen phối hợp HbE, $\beta^0\beta^E$, HbA1 không có, HbF tăng cao 51,9 ± 12,8%, nhiều HbE 40,2 ± 11,5%, còn HbA2 trong giới hạn bình thường hay tăng nhẹ, 2,4 ± 1,6% Hb toàn phần.

CHƯƠNG 4

BÀN LUẬN

4.1. Kiểu hình lâm sàng, huyết học β -Thalassemia

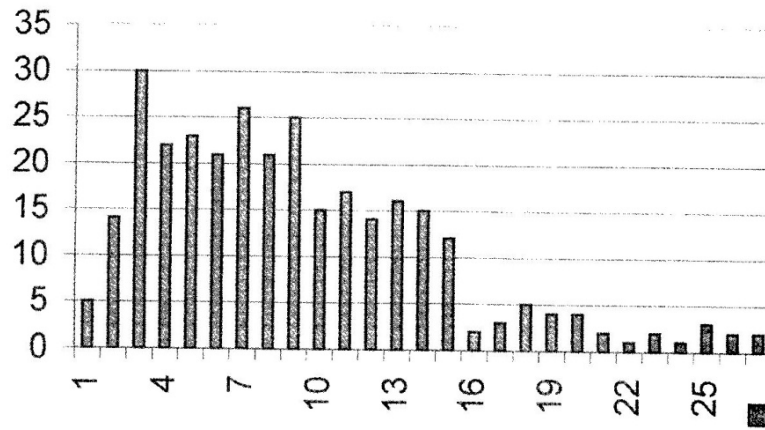
Trong thời gian từ 2010 đến 3/2018 đã có 104 bệnh nhân β -thalassemia đủ tiêu chuẩn chẩn đoán đưa vào nghiên cứu. Trong số đó có 55 bệnh nhân β -thalassemia đơn thuần và 49 bệnh nhân β -thalassemia/HbE, đây là những bệnh nhân cần được điều trị tại bệnh viện.

4.1.1. Một số đặc điểm về dịch tễ lâm sàng

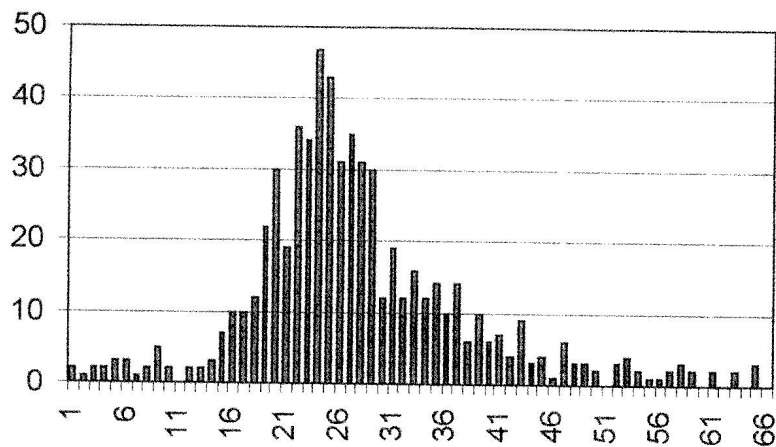
Tuổi và giới

Kết quả nghiên cứu trình bày ở bảng 3.1 cho thấy phần lớn trẻ vào viện dưới 5 tuổi (85,6% số bệnh nhân), đặc biệt là trẻ dưới 1 tuổi chiếm gần nửa số bệnh nhân (48,1%). Kết quả này phù hợp với kết quả ở bảng 3,4 về tuổi phát hiện bệnh đầu tiên, 88,4% ở dưới 5 tuổi và 55,7% ở dưới 1 tuổi. Chúng tôi muốn so sánh với một nghiên cứu lâm sàng, có thể nói là nghiên cứu lâm sàng đầu tiên với số lượng bệnh nhân β -thalassemia nhiều ở Việt Nam, từ năm 1985, cho thấy với β -thalassemia đơn thuần tuổi vào viện chủ yếu là trẻ dưới 1 tuổi (73,7%), và dưới 3 tuổi là 92,1%; với β -thalassemia/HbE, tuổi vào viện dưới 1 tuổi là 16%, dưới 3 tuổi là 40% trường hợp [115]. Kết quả cho thấy tuổi vào viện chưa có thay đổi nhiều trong hơn 30 năm qua. Điều này có thể giải thích do chưa có một chương trình phòng bệnh có quy mô toàn quốc. Nghiên cứu về dịch tễ học, Hiệp hội Thalassemia quốc tế 2005, cho biết phân bố tuổi người bệnh thalassemia ở quốc gia chưa có chương trình dự phòng, tuổi phổ biến là dưới 10 tuổi, nhất là dưới 5 tuổi, còn ở quốc gia đã có chương trình dự phòng và điều trị đầy đủ cho thalassemia thì tuổi phổ biến từ 20 đến dưới 30 (Hình 4.1) [2].

A. Phân bố tuổi thalassemia ở quốc gia chưa có chương trình dự phòng



B. Phân bố tuổi thalassemia ở quốc gia có điều trị đầy đủ và dự phòng



Hình 4.1. Phân bố tuổi thalassemia [2]

- Giới:

Kết quả trình bày ở bảng 3.1 cho thấy tỷ lệ nam/nữ là 1.3/1 (59/54). β -thalassemia là bệnh di truyền nhiễm sắc thể thường, nên không khác nhau về giới tính.

- Dân tộc:

Kết quả trình bày ở bảng 3.2, trong 104 bệnh nhân β -thalassemia, 71 bệnh nhân (68,3%) là dân tộc kinh, 33 bệnh nhân (31,1%) là dân tộc ít người. So với tỷ lệ người dân tộc ít người ở Việt Nam chỉ có 10-15% toàn

bộ dân số ở Việt Nam, cho thấy tỷ lệ β -thalassemia ở dân tộc ít người trong nghiên cứu này nhiều hơn dân tộc Kinh. Phù hợp với các nghiên cứu đã có ở Việt Nam trước đây, β -thalassemia phổ biến ở người dân tộc ít người hơn người Kinh [3], [4].

- Địa phương:

Trong 104 bệnh nhân, bệnh nhân cư trú tại Hà Nội là nhiều nhất, 14 bệnh nhân còn lại ở rải rác trong 28 tỉnh thành miền Bắc. Như vậy số liệu nghiên cứu này có thể đại diện cho β – thalassemia ở miền Bắc Việt Nam. Phù hợp với nghiên cứu đã có ở Việt Nam, β – thalassemia phân bố ở tất cả các tỉnh thành trong cả nước, ở nhiều dân tộc khác nhau, dân tộc ít người ở các tỉnh miền núi và cao nguyên có tần số mang gen β – thalassemia cao hơn dân tộc Kinh và vùng đồng bằng [5]. Trong nghiên cứu này cũng thấy các tỉnh miền núi có dân tộc ít người thì số lượng bệnh nhân cũng nhiều, như Sơn La, Bắc Giang, Yên Bái, mỗi tỉnh có 8 bệnh nhân, rồi đến các tỉnh Tuyên Quang, Lạng Sơn, Lào Cai, Phú Thọ, Thanh Hóa, Nghệ An, mỗi tỉnh có 5-7 bệnh nhân.

- Hemoglobin E:

Trong 104 bệnh nhân nghiên cứu có tới 49 bệnh nhân là bệnh β -thalassemia phối hợp với HbE . Nguyễn Công Khanh và cộng sự 1987 và 1993 đều kết luận HbE cùng với β -thalassemia, α -thalassemia là bệnh Hb phổ biến ở Việt Nam [3][4][116]. Tại Việt Nam, tần số lưu hành HbE từ 0,98 – 55,9% tùy theo địa phương, dân tộc, có chiều hướng tăng dần từ miền Bắc vào miền Nam và từ vùng đồng bằng lên vùng núi. Người Kinh đồng bằng miền Bắc từ 0,98 – 1,24%, người Kinh miền Trung là 4,6%, người Mường miền Bắc là 7,5%, người Thái 16,6%, người Vân Kiều 23%, người Chăm 29,1%, người Khme 36,8%, người Rhade 38,6%, người Stieng 55,9% [117][118][119]. Vì HbE lưu hành phổ biến với β – thalassemia, cho nên số bệnh nhân vào viện điều trị là thể phối hợp với HbE (β – thalassemia/HbE) nhiều

hơn cả β -thalassemia đồng hợp tử. Trong nghiên cứu này số bệnh nhân β -thalassemia/HbE là 49, gần bằng số bệnh nhân β -thalassemia các thể hợp lại. Phù hợp với nhận xét của các tác giả của Bệnh viện Nhi trung ương trước đây, khi nghiên cứu nguyên nhân thiếu máu tan máu nặng do bệnh hemoglobin, đã có nhận xét bệnh β -thalassemia/HbE chiếm tới 2/3 các trường hợp, còn β -thalassemia đồng hợp tử chỉ chiếm 1/3 các trường hợp thiếu máu tan máu mạn tính nặng [119]. Trong 205 bệnh nhân hemoglobin vào Khoa huyết học lâm sàng, Bệnh viện Nhi trung ương năm 1999, Bùi Văn Viên thấy 130 bệnh nhân β – thalassemia/HbE (63,4%), chỉ có 51 bệnh nhân là β -thalassemia đồng hợp tử (24,9%), và 24 bệnh nhân là bệnh HbH (α -thalassemia 11,7%) [116].

4.1.2. Đặc điểm về kiểu hình lâm sàng β -thalassemia

4.1.2.1. Biểu hiện lâm sàng

Các bệnh nhân trong nghiên cứu này là các thể β -thalassemia nặng và trung gian, cần được điều trị nên phải vào bệnh viện. Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.5 trong phần kết quả nghiên cứu cho thấy biểu hiện lâm sàng của β -thalassemia rất phong phú, nhiều triệu chứng thể hiện 3 hội chứng chính. Đó là thiếu máu tan máu mạn tính, nhiễm sắt và chậm tăng trưởng về thể chất. Thiếu máu tan máu mạn tính biểu hiện bằng các triệu chứng thiếu máu, vàng da, lách to, biến dạng xương. Hội chứng nhiễm sắt biểu hiện lâm sàng bằng các triệu chứng da xám xỉn, niêm mạc lợi - răng xám đen, gan to, chậm tăng trưởng trong nghiên cứu này là triệu chứng kém tăng trưởng về cân nặng, chiều cao so với chuẩn bình thường của trẻ em Việt Nam (bảng 3.5 và 3.6).

Thiếu máu ở β -thalassemia xảy ra rất sớm, là triệu chứng đầu tiên người nhà phát hiện trẻ bị bệnh, 55,7% lúc trẻ dưới 1 tuổi, 88,4% lúc trước 5 tuổi (bảng 3.4) và cũng là lý do người nhà đưa trẻ đến bệnh viện, 95,2% trường hợp (bảng 3.3). Thiếu máu thường nặng kéo dài, phụ thuộc nhiều vào truyền máu, 64,9% trẻ phải truyền máu trên 5 lần/năm (bảng 3.8).

Triệu chứng lách to biểu hiện của tan máu mạn tính, rất phổ biến, tới 80,8% trường hợp, đa số to vừa từ 1-5cm dưới bờ sườn phải (77,4%) và to đến rất to từ 6 đến trên 10cm dưới bờ sườn phải (22,6%) (bảng 3.5). Nhiều trường hợp lách quá to, gây cường lách phải chỉ định cắt lách.

Một đặc điểm của thiếu máu tan máu mạn tính trong β -thalassemia là có kèm theo với thiếu máu do hiện tượng sinh hồng cầu không hiệu quả ở tủy xương, phản ứng tạo máu tủy xương rất mạnh, nên có biểu hiện xương sọ dày, biến dạng bộ mặt khá đặc hiệu được gọi là bộ mặt thalassemia và loãng xương, biến dạng cả các xương dài. Kết quả ở bảng 3.5. cho thấy dấu hiệu bộ mặt thalassemia rõ trong 51% bệnh nhân, biến dạng xương khác là 28,8% bệnh nhân.

Biểu hiện nhiễm sắt, do hậu quả của truyền máu chữa thiếu máu nhiều và tăng hấp thu sắt ở ruột, khá rõ ràng, 56,7% số bệnh nhân có triệu chứng gan to từ 1-10cm dưới bờ sườn phải, 17,3% số bệnh nhân có triệu chứng da sạm xỉn, và 9,6% bệnh nhân có triệu chứng niêm mạc lợi chân răng xạm đen (bảng 3.5).

Kết quả đánh giá sự tăng trưởng về thể chất trong bảng 3.6 cho thấy 24% trẻ có chậm tăng trưởng về cân nặng, cân nặng theo tuổi giảm 2SD, và 25% chậm tăng trưởng chiều cao, chiều cao giảm 2SD, so với trẻ bình thường cùng lứa tuổi. Các nghiên cứu trước đây ở trẻ em Việt Nam cũng cho thấy hầu hết trẻ em bị β – thalassemia nặng bị chậm tăng trưởng về thể chất và phát triển tuổi xương [115][116][121]. Nguyên nhân của chậm tăng trưởng do hậu quả của thiếu máu nặng mạn tính, nhiễm sắt ở các hệ thống cơ thể, đặc biệt là hệ nội tiết, và thiếu dinh dưỡng. Nhận xét này được chứng minh qua nghiên cứu của nhiều tác giả. Bùi Ngọc Lan (1995), thấy hormone tăng trưởng, T4 và cortisol giảm, mức độ T3 và T4 giảm tương quan với mức độ nhiễm sắt [121]. Bashir N. và cs. (1993) thấy nồng độ cortisol ở bệnh nhân β – thalassemia

giảm, chỉ bằng 3/4 nồng độ cortisol ở người bình thường [122]. El- Hazmi MAF (1994) thấy nồng độ LH, FSH, testosterone và cortisol huyết tương bệnh nhân β – thalassemia nặng giảm rõ rệt và có tương quan nghịch với nồng độ ferritin huyết thanh [123]. Harder AF và cs (1993) thấy nhiễm sắt mức độ nhẹ với ferritin < 7000 mg/ml thì suy giáp còn bù, nhưng khi nhiễm sắt nặng với ferritin > 7000mg/ml thì suy giáp mất bù [124].

Cơ chế gây thiếu máu tan máu mạn tính, nhiễm sắt nặng và chậm phát triển tăng trưởng ở trẻ β – thalassemia có thể được giải thích tóm tắt trong hình 1.7 về sinh lý bệnh β – thalassemia nặng trong phần tổng quan trong luận án này.

Kết quả ở bảng 3.5 về biểu hiện lâm sàng giữa β -thalassemia đơn thuần với β -thalassemia/HbE cho thấy biểu hiện lâm sàng của hai thể bệnh rất phong phú, khá tương tự như nhau, chỉ khác nhau về thời gian xuất hiện bệnh và mức độ thiếu máu. Thời gian phát hiện bệnh β -thalassemia sớm hơn β -thalassemia/HbE 76,6% lúc dưới 1 tuổi với β -thalassemia và 44,7% lúc dưới 1 tuổi với β - thalassemia/HbE ($p < 0,001$).

Thời gian xuất hiện bệnh của β -thalassemia/HbE muộn nhiều hơn so với β -thalassemia nặng đơn thuần, 20,4% lúc trên 5 tuổi với β -thalassemia/HbE và 3,6% với β -thalassemia ($p < 0,05$). Mức độ thiếu máu nặng ở bệnh nhân β -thalassemia nhiều hơn β -thalassemia/HbE, 49% ở bệnh nhân β -thalassemia và 32,7% ở bệnh nhân β – thalassemia/HbE. Do đó nhu cầu truyền máu trên 5 lần/năm ở bệnh nhân β -thalassemia nhiều hơn β -thalassemia/HbE 76,9% so với 50% ($p < 0,05$).

Bảng 4.1. So sánh một số biểu hiện lâm sàng của β -thalassemia và β -thalassemia/HbE

Biểu hiện lâm sàng	β -thalassemia (n = 55)	β -thalassemia/HbE (n = 49)	P
Phát hiện bệnh:			
- Dưới 1 tuổi	74,6%	44,7%	< 0,001
- 1 – 5 tuổi	21,8%	44,9%	0,09
- Trên 5 tuổi	3,6%	20,4%	< 0,05
Thiếu máu nặng	49%	32,7%	< 0,05
Truyền máu > 5 lần/năm	76,9%	50%	< 0,006
Vàng da	12,7%	28,5%	< 0,05
Lách to	87,3%	73,5%	0,07
Gan to	63,6%	49%	0,132
Bộ mặt thalassemia	58,2%	42,9%	0,118
Da sạm xỉn	25,5%	8,2%	<0,05

- Kết quả nghiên cứu về đặc điểm lâm sàng β -thalassemia của nghiên cứu này rất phù hợp với các nghiên cứu trước đây tại Việt Nam [6] [115] [116] [120] [121].

4.1.2.2. Phân loại mức độ bệnh

Kết quả phân loại mức độ bệnh trong bảng 3.9 cho thấy đa số bệnh nhân β -thalassemia vào viện là thể nặng (70,2%). Với các bệnh nhân β -thalassemia đơn thuần, đa số là thể nặng (87,3%), thể trung gian chỉ có 10,9% và 1,8% là thể nhẹ. Với bệnh nhân β -thalassemia/HbE có 51% biểu hiện là thể nặng, 44,9% là thể trung gian, và 4,1% là thể nhẹ. Kết quả này phù hợp với kết quả trình bày ở bảng 3.8 có tới 64,9% bệnh nhân β -thalassemia vào viện với nhu cầu truyền máu rất cao, phải truyền máu > 5 lần/năm.

β -thalassemia trung gian được định nghĩa là thể bệnh ở giữa β -thalassemia nặng và β -thalassemia nhẹ, biểu hiện triệu chứng từ ít triệu chứng và triệu chứng rất nhẹ đến nhiều triệu chứng như β -thalassemia nặng. Để đánh giá chi tiết hơn, Shubha Phadke có đề xuất phân β -thalassemia trung gian thành 3 nhóm nhỏ, nhóm I là nhẹ đến nhóm III là nặng, dựa vào lâm sàng. Chúng tôi thử phân loại theo Shubha Phadke, kết quả như bảng 3.10, nhóm I là 25%, nhóm II là 17,9%, nhóm III là 57,1%. Như vậy có thể kết luận đa số β -thalassemia trung gian vào viện trong nghiên cứu này có biểu hiện lâm sàng không đồng nhất, đa số biểu hiện lâm sàng giống thể nặng nhiều hơn.

4.1.3. Đặc điểm về kiểu hình huyết học

Các kết quả về huyết học trình bày ở trên cho thấy biến đổi về huyết học khá đặc hiệu ở bệnh nhân β -thalassemia thể hiện ở hồng cầu và hemoglobin. Đặc điểm về huyết học trong nghiên cứu này là đặc điểm về huyết học của bệnh nhân β -thalassemia phải điều trị, gồm bệnh nhân β -thalassemia nặng và trung gian là chủ yếu, trong đó có β -thalassemia đơn thuần và β -thalassemia/HbE, không có thể bệnh nhẹ của người mang gen β -thalassemia.

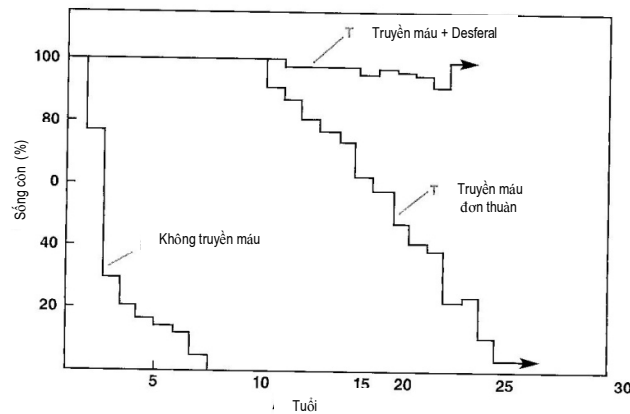
*** Hồng cầu:**

Số lượng hồng cầu giảm nhiều, trung bình là $2,85 \pm 0,88$ T/l, thấp nhất là 1,14 T/l. Số lượng hồng cầu ở β -thalassemia đơn thuần giảm nhiều hơn β -thalassemia/HbE ($p < 0,05$), $2,53 \pm 0,73$ T/l, với $3,15 \pm 0,87$ T/l tương ứng (bảng 3.11). Tương ứng với số lượng hồng cầu, hematocrit cũng giảm nhiều, trung bình là $20,05 \pm 5,92\%$, thấp nhất chỉ là 7,5%. Hematocrit ở β -thalassemia giảm nhiều hơn β -thalassemia/HbE, $18,23 \pm 4,73\%$ với $21,52 \pm 6,26\%$ tương ứng (bảng 3.12).

*** Hemoglobin:**

Lượng hemoglobin cũng giảm nhiều, trung bình chỉ còn 65,5g/l, thấp nhất là 25g/l. Thể β -thalassemia đơn thuần giảm nhiều hơn β -thalassemia/HbE, lần lượt là $60,77 \pm 16,56$ g/l và 69,05 g/l (bảng 3.12). Do đó

hầu hết bệnh nhân β -thalassemia vào viện bị thiếu máu từ vừa đến nặng, 50% thiếu máu vừa, 41,4% thiếu máu nặng. Tỷ lệ thiếu máu nặng ở bệnh nhân β -thalassemia đơn thuần nhiều hơn β -thalassemia/HbE (bảng 3.13). Điều này giải thích tại sao bệnh nhân β -thalassemia vào viện phải truyền máu nhiều, 64,9% số bệnh nhân phải truyền máu trên 5 lần/năm (bảng 3.8). Truyền máu đều đặn góp phần quan trọng để duy trì và nâng cao chất lượng cuộc sống cho bệnh nhân β -thalassemia nặng [82]. β -thalassemia nặng không được truyền máu, hoặc truyền máu không đều, không đủ thường chết trước 5 tuổi, ít trẻ sống được 10 tuổi (Hình 4.2) [83]



Hình 4.2. Tỷ lệ sống còn của bệnh nhân β -thalassemia
(Modell B và cs. 1992)[2]

* Chỉ số về hồng cầu:

Kết quả trình bày ở bảng 3.14 cho thấy có sự thay đổi khá đặc hiệu trong β -thalassemia, thường được sử dụng để chẩn đoán và sàng lọc β -thalassemia.

Thể tích trung bình hồng cầu (MCV) nhỏ một cách rõ rệt, trung bình là $70,77 \pm 8,07$ fl, nhỏ nhất là 52,9 fl. Thể tích trung bình hồng cầu ở β -thalassemia/HbE có phần nhỏ hơn β -thalassemia đơn thuần, $66,88 \pm 8,07$ fl so với $74,18 \pm 6,42$ fl.

Hemoglobin trung bình hồng cầu (MHC) giảm rõ rệt, trung bình là $23,08 \pm 3,64\text{pg}$, thấp nhất là $15,8\text{pg}$. MCH ở bệnh nhân β -thalassemia và β -thalassemia/HbE giảm tương đương nhau.

Nồng độ hemoglobin hồng cầu (MCHC) còn trong giới hạn bình thường, trung bình là $318,46 \pm 2,17\%$.

Dải phân bố kích thước hồng cầu (RDW) lớn, trung bình là $23,78 \pm 3,39$, nhỏ nhất là $13,4$, lớn nhất là $29,7$, chứng tỏ nhiều bệnh nhân kích thước hồng cầu không đều, to nhỏ rất khác nhau.

Kết quả về các chỉ số hồng cầu cho thấy các đặc điểm về hồng cầu trong β -thalassemia là nhiều hồng nhỏ, hồng cầu nhược sắc nặng, kích thước hồng cầu không đều, to nhỏ rất khác nhau. Kết quả này cũng tương tự như các nghiên cứu đã có ở trong nước trước đây [6][115][116].

* Thành phần hemoglobin

Kết quả trình bày ở bảng 3.15 cho thấy thành phần hemoglobin ở bệnh nhân thay đổi rất nhiều. Với bệnh nhân β -thalassemia nói chung, HbA1 giảm nhiều, trung bình là $35,03 \pm 27,3\%$ Hb toàn phần, thấp nhất là 0% , cao nhất là $78,2\%$; HbA2 tăng ít, trung bình là $3,9 \pm 4,96\%$, cao nhất là $7,9\%$; HbF tăng cao, trung bình $43,52 \pm 20,6\%$, thấp nhất là $6,8\%$, cao nhất tới 95% .

Thành phần hemoglobin thay đổi khá đặc hiệu cho hai thể bệnh nghiên cứu. Với β -thalassemia đơn thuần, HbA1 còn $36,04 \pm 26,21\%$, thấp nhất là 0% , HbF tăng cao, trung bình là $47,8 \pm 30,5\%$, thấp nhất cũng là 14% , cao nhất tới 95% Hb toàn phần.

Với β -thalassemia/HbE; HbA1 cũng giảm, trung bình là $34,06 \pm 28,82\%$, thấp nhất cũng là 0% , cao nhất $61,5\%$; HbF cũng tăng rất cao, trung bình là $37,12 \pm 18,5\%$, cao nhất tới $85,2\%$; HbA2 tăng vừa phải, đặc biệt xuất hiện nhiều HbE, trung bình tới $40,32 \pm 17,3\%$, thấp nhất cũng là 12% , cao nhất tới $63,1\%$.

Sự thay đổi thành phần hemoglobin này hoàn toàn giống như y văn, cũng như những nghiên cứu trong nước từ trước [1] [6][115][116].

Cơ chế của sự thay đổi thành phần hemoglobin do bệnh sinh cơ bản của β -thalassemia là không tổng hợp hay tổng hợp được ít mạch β -globin, vì đột biến gen β -globin. Tùy theo vị trí đột biến tạo ra kiểu hình β^0 -thalassemia hay β^+ -thalassemia, mà kết quả không tổng hợp được mạch β -globin, hay tổng hợp được ít mạch β -globin. Trường hợp không tổng hợp được mạch β -globin sẽ không có HbA1, còn tổng hợp được ít mạch β -globin, thành phần HbA1 sẽ giảm. Khi mạch β -globin giảm hoặc không có, mạch α sẽ thừa dư gây nhiều rối loạn bệnh lý, xem hình 1.7. Mạch α -globin thừa dư sẽ kết hợp với mạch δ -globin hay γ -globin mà tạo ra HbA2 hay HbF, làm tăng thành phần HbA2 và HbF. Đặc điểm về thay đổi thành phần hemoglobin này được sử dụng làm tiêu chuẩn huyết học để chuẩn đoán β -thalassemia.

4.2. Đột biến gen *HBB* ở bệnh nhân β -Thalassemia

4.2.1. Các đột biến gen *HBB* phát hiện

Như phần tổng quan đã trình bày, β -thalassemia là bệnh di truyền với đặc điểm giảm tổng hợp mạch β -globin của HbA, do các đột biến ở gen β -globin gây ra. Cho tới nay đã có trên 200 đột biến gen *HBB* được phát hiện, phần lớn là đột biến điểm. Kết quả trình bày ở bảng 3.18, nghiên cứu này đã phát hiện 208 alen đột biến ở 104 bệnh nhân β -thalassemia vào Bệnh viện Nhi trung ương, với 13 dạng đột biến khác nhau. Tỷ lệ phát hiện đột biến 100% bệnh nhân nghiên cứu, các bệnh nhân đều có 2 đột biến kết hợp. Tỷ lệ phát hiện đột biến rất cao, vì các đối tượng nghiên cứu là các bệnh nhân β -thalassemia thể nặng và trung gian đã được chẩn đoán là bệnh β -thalassemia và β -thalassemia/HbE dựa vào lâm sàng và huyết học. Kết quả này cũng cho

thấy việc chẩn đoán β -thalassemia thể nặng và trung gian có thể dựa vào lâm sàng và xét nghiệm huyết học, đặc biệt là các chỉ số hồng cầu và thành phần hemoglobin như MCV, MCH, HbA và HbF, HbE, có thể chính xác, để thực hành điều trị kịp thời, nhất là xét nghiệm sinh học phân tử để phát hiện đột biến gen *HBB* chưa có thể thực hiện được ở hầu hết bệnh viện tuyến tỉnh.

Kết quả trình bày ở bảng 3.18 đã phát hiện được 13 dạng đột biến, bằng quy trình phát hiện đột biến gen *HBB* ở Khoa sinh học phân tử Bệnh viện Nhi trung ương. Có 4 đột biến phổ biến nhất, chiếm 88,6% các đột biến phát hiện là CD41/42 (-TCTT), CD17 (AAG – TAG), CD26 (GAG – AAG) và CD71/72 (+A), với tỷ lệ lần lượt là 30,3%, 30%, 23,5%, và 4,8%. Tiếp theo có 6 dạng đột biến ít phổ biến là IVS2.654 (C – T), -28 (A – G), -88 (C – T), CD95 (TAC – TAA), IVS 1 – 1 (G – T), IVS 1-5 (G – C), với tỷ lệ lần lượt là 2,9%, 2,9%, 1,4%, 1%, 1% và 1%. Có 3 đột biến hiếm gặp phát hiện được qua giải trình tự gen Sanger sequencing là -140 (C – T), c.441 – 442insAC và kỹ thuật Duplex Gap PCR là 2.3 kb deletion, với tỷ lệ đột biến mỗi loại là 1%.

Như vậy, nghiên cứu này đã phát hiện được thêm 1 dạng đột biến hơn so với các nghiên cứu trước đây đã có ở Việt Nam, đó là đột biến -88 (C – T).

Bảng 4.2. Tần số các đột biến gen HBB ở bệnh β -thalassemia tại Việt Nam

Đột biến	Miền Bắc (Nghiên cứu này)	Miền Bắc 2000 [8]	Miền Trung 2013 [125]	Miền Nam 2002 [11]	Miền Nam 1988 [10]
CD41/42 (-TCTT)	30,3%	34,5%	+	35,7%	43,5%
CD17 (AAG--TAG)	30%	48,3%	+	25%	13%
CD26 GAG--AAG)	23,5%	-	+	-	-
CD71/72 (+A)	4,8%	3,5%	-	7,3%	8,7%
IVS2.654 (C--T)	2,9%	13,8%	-	7,3%	13%
-28 (A—G)	2,9%		-	7,3%	-
-88 (C—T)	1,4%	-	-	-	-
CD95 (TAC--TAA)	1%	-	-	-	-
IVS 1-1 (G--T)	1%	-	+	6%	4,4%
IVS 1-5 (G—C)	1%	-	-	-	-
-140 (C—T)	0,5%	-	-	-	-
c.441-c442 ins AC	0,5%	-	-	-	-
2.3 kb deletion	0,5%	-	-	-	-
Khác	-	-	-	11,8%	17,4%

Thống nhất với các nghiên cứu đã có ở Việt Nam, bốn loại đột biến phổ biến ở Việt Nam, từ Bắc đến Nam là CD41/42, CD 17, CD71/72, và CD 2 – 654, trừ CD26, các nghiên cứu khác chưa công bố đủ. Kết quả nghiên cứu trước đây ở miền Nam còn công bố một số đột biến khác, từ 11,8% đến 17,4% [11][10], là các đột biến chưa xác định được.

* Trong 208 allen đột biến phát hiện trên 104 bệnh nhân, có 49 đột biến CD26, đột biến CD26 là đột biến có tác động làm thay đổi mạch β -globin ở vị

trí 26 (glu – lys), có kiểu hình HbE. Bệnh HbE có kiểu hình nhẹ của một β^+ - thalassemia, đồng hợp tử HbE thường không có triệu chứng. HbE là hemoglobin phân bố chính ở khu vực Đông Nam Châu Á. Theo Suthat Fucharoen và cs. 1993, thể phối hợp β -thalassemia/HbE ở khu vực Đông Nam Châu Á phổ biến hơn β -thalassemia đồng hợp tử nhiều [126]. Tại Việt Nam, theo Nguyễn Công Khanh và cs. 1993, hemoglobin E rất phổ biến ở Việt Nam, tần số thay đổi từ Bắc đến Nam từ 1,24% đến 55,9%, phổ biến ở người dân tộc ít người nhiều hơn người Kinh, phổ biến ở khu vực miền Trung và Nam nhiều hơn miền Bắc [3],[4], [5], [6]. Nghiên cứu này cũng cho thấy số bệnh nhân β -thalassemia/HbE khá nhiều, chiếm 49/104; kết quả ở bảng 3.20, thấy số bệnh nhân có kiểu gen $\beta^0\beta^E$ và $\beta^+\beta^E$ là 49, nhiều hơn số bệnh nhân có kiểu gen $\beta^0\beta^0$, $\beta^+\beta^+$ (41 bệnh nhân) và $\beta^0\beta^+$ (14 bệnh nhân).

* Như phân kết quả nghiên cứu đã trình bày ở bảng 3.18, trong nghiên cứu này, với sự hỗ trợ quốc tế, bằng kỹ thuật Duplex Gap PCR, đã phát hiện 1 trường hợp đột biến mất đoạn 2,3 kb deletion gen β -globin.

Hầu hết các đột biến gen *HBB* gây β -thalassemia là các đột biến không mất đoạn (non deletion mutations), các đột biến β -thalassemia mất đoạn rất ít gặp [2]. Các đột biến mất đoạn β -thalassemia do Hiệp hội Thalassemia quốc tế công bố 2003 như bảng dưới đây.

Bảng 4.3. Các đột biến mất đoạn ở β -thalassemia [2]

Đột biến	Kiểu hình	Nguồn gốc
25 bp deletion	β^0	Trung Đông
44 bp deletion	β^0	Hy Lạp, Macodonian
105 bp deletion	β^0	
290 bp deletion	β^0	Thổ Nhĩ Kỳ, Bulgari
532 bp deletion	β^0	Da đen
619 bp deletion	β^0	Châu Á, Ấn Độ
1.393 bp deletion	β^0	Da đen, Anh
1.605 bp deletion	β^0	Croatia
3.485 bp deletion	β^0	Thái Lan
4.237 bp deletion	β^0	Czech – Tiệp Khắc
7.6 kb deletion	β^0	Thổ Nhĩ Kỳ
10.329 bp deletion	β^0	Ấn Độ
12.023 bp deletion	β^0	Úc
12.620 bp deletion	β^0	Hà Lan
27 kb deletion	β^0	Đông Nam Châu Á
45 kb deletion	β^0	Philipine
67 kb deletion	β^0	Ý

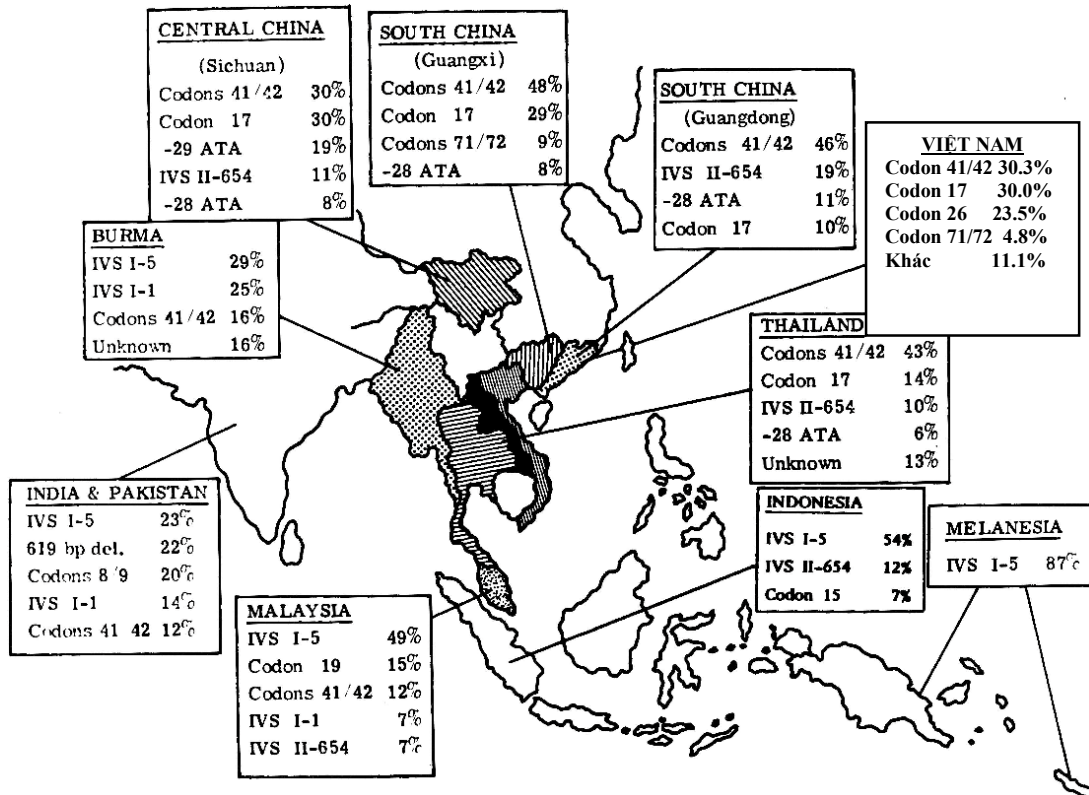
Chưa có công bố nào về đột biến mất đoạn gen *HBB* ở trong nước. Có một tài liệu của Penelop IM và cs. 1993, thông báo 2 trường hợp đột biến mất đoạn, 7.0 kb deletion và 9.6 kb deletion gen β -globin, ở 2 người Việt Nam, tại Australia, với đặc điểm huyết học: Hb 136 và 135 g/L, MCV bình thường (81 và 77 fl), MCH hơi giảm (26pg), HbF tăng vừa (18 – 27%), HbA2 tăng nhẹ (3,8 và 3,4%) [127]. Peng CT. và cs. (2003) cho rằng, chỉ dưới 5% gen *HBB* bị đột biến mất đoạn gây β -thalassemia thể nhẹ. Tác giả có nêu 3 trường hợp đột biến mất đoạn, 292 bp deletion, 376 bp deletion, và 508 bp deletion, 2 trong 3 bệnh nhân là bệnh tồn dư hemoglobin bào thai di truyền (HPFH : Hereditary Persistent Fetal Hemoglobinemia) ở Đông Nam Á (SEA). Lâm sàng của đột biến mất đoạn thường nhẹ hơn thể β^0 của đột biến điểm. Bệnh nhân có đột biến dị hợp tử kép giữa một đột biến điểm với đột biến mất đoạn thường không phụ thuộc truyền máu [128]. Đột biến mất đoạn 2.3kb deletion

trong nghiên cứu này kết hợp với đột biến điểm IVS2.654 thành thể dị hợp tử kép $\beta^+\beta^+$ (bảng 3.26) là thể bệnh nhẹ.

β - thalassemia là bệnh rất không đồng nhất, cả về mặt di truyền phân tử và biểu hiện lâm sàng (Weatherall và cs. 1981, Wainscoat và cs. 1982, 1983). β - thalassemia ở khu vực Đông Nam Châu Á có thể là do nhiều cơ chế phân tử khác nhau, có thể do thay thế, hoặc mất đoạn nhỏ, hoặc được gắn thêm một hay hai nucleotide vào DNA (Fucharoen Sp và cs 1989, Yang và cs.1989, Thein và cs 1990, Winichagoon và cs. 1990) [129]. Tuy nhiên, các nghiên cứu đều cho thấy, đột biến β - thalassemia tương đối đặc hiệu theo từng khu vực và dân tộc. So sánh những đột biến phát hiện trong nghiên cứu này với một số nước trong khu vực Đông Nam Châu Á được trình bày trong bảng 4.4 và hình 4.3 như sau.

Bảng 4.4. Tần số đột biến gen β -globin ở một số nước Châu Á (%)

Đột biến	Việt Nam (Nghiên cứu này)	Thái Lan 1997 [17]	Nam Trung Quốc 2010 [130]	Malaysia 2004 [131]	Singapore 2005 [2]	Indonesia 2005 [2]	Hàn Quốc 2002 [132]	Nhật Bản 2005 [2]
CD41/42	30,3%	41,6%	19,6%	-	45%	40,2%	4,2%	7,3%
CD17	30%	16,5%	15,9%	9,3%	11,8%	2%	21,2%	0,4%
CD26	23,5%	-	12,6%	19%	-	-	-	-
CD71/72	4,8%	2,1%	3,7%	-	-	2,4%	-	-
IVS2.654	2,9%	8%	9,3%	-	32,4%	6%	-	14,6%
-28	2,9%	9,3%	20,1%	-	-	-	-	0,4%
-88	1,4%	-	-	-	-	-	-	-
CD95	1%	-	-	-	-	-	-	-
IVS 1-1	1%	1,3%	2,3%	4,8%	-	3,8%	-	1,2%
IVS 1-5	1%	-	-	39,5%	1%	9,6%	-	-
c-140	0,5%	-	-	-	-	-	-	-
c.441-442 ins AC	0,5%	-	-	-	-	-	-	-
2.3 kb del	0,5%	-	-	-	-	-	-	-
Khác	-	21,2%	16,5%	33,4%		3,8%	74,6%	-



Hình 4.3. Phân bố đột biến gen β -thalassemia phổ biến ở Châu Á

* Việt Nam: [Nghiên cứu này] * Các nước khác: [126]

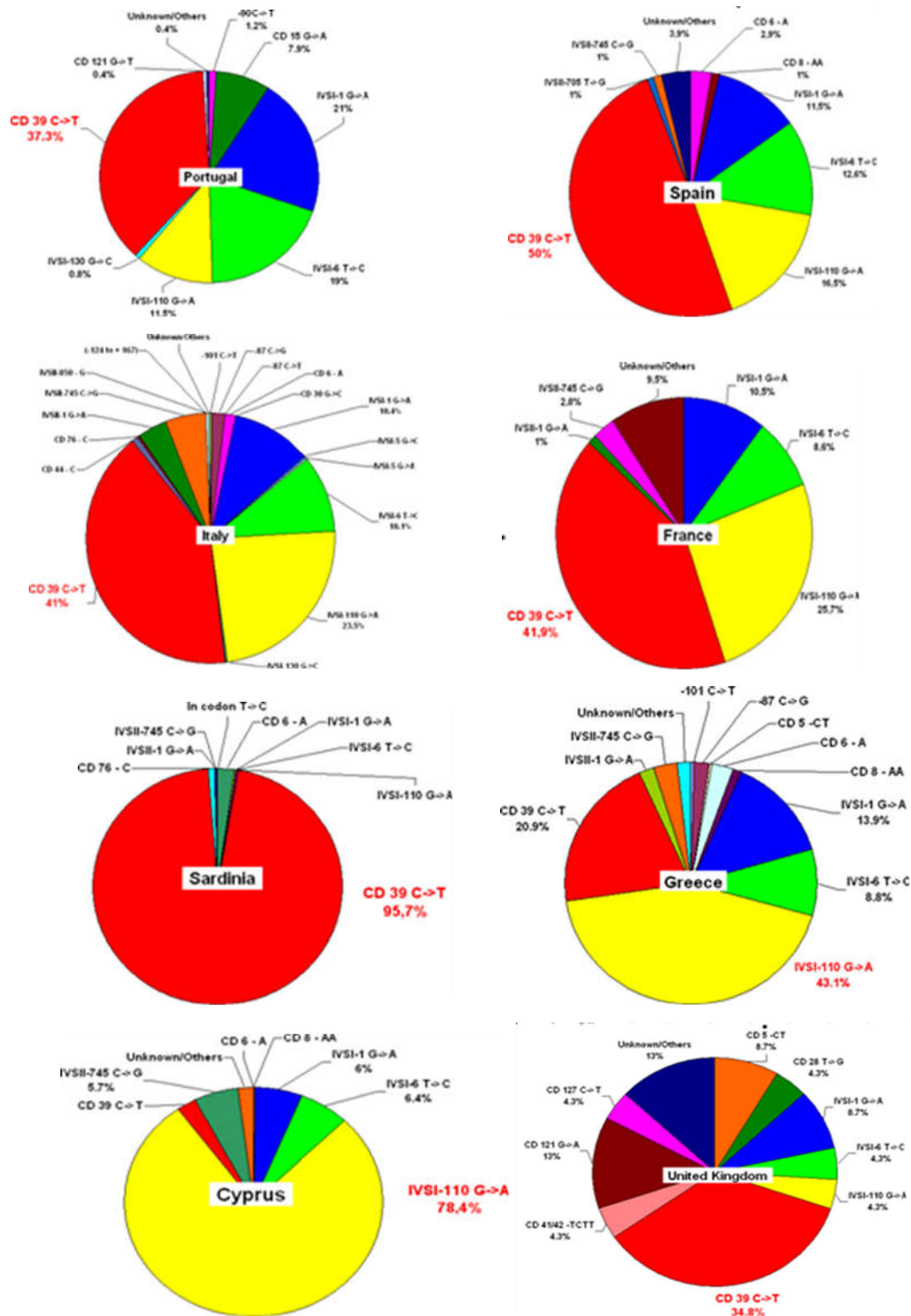
Như vậy, các đột biến phổ biến phát hiện được trong nghiên cứu này khá giống các đột biến phổ biến tìm thấy ở nhiều nước Đông Nam Châu Á. Các đột biến phổ biến với tần số khá cao tìm thấy ở Việt Nam khá giống với các đột biến ở Trung Quốc, Thái Lan, và một phần giống với một số nước khác ở Đông Nam Châu Á, trừ Malaysia. Đột biến CD17 thấy ở tất cả các nước Đông Nam Châu Á với tần số khá cao. Đột biến CD71/72 cũng phát hiện được ở Việt Nam, Thái Lan, Trung Quốc, Indonesia với tần số tương đối cao. Đột biến IVS2-654 cũng phát hiện thấy ở hầu hết các nước Đông Nam Châu Á, đặc biệt ở người Hoa, Singapore có tỷ lệ rất cao, tới 32,4%. Các đột biến IVS1 – 1, IVS1 – 5 cũng tìm thấy ở nhiều nước nhất là tỷ lệ cao ở Malaysia, Burma, Ấn Độ. HbE do đột biến ở vị trí CD26 của mạch β -globin (glu \rightarrow lys), là hemoglobin rất phổ biến ở Đông Nam Châu Á, trong nghiên

cứu này tỷ lệ đột biến CD26 rất cao, tới 23,5% các đột biến, tương tự như đột biến được công bố ở Trung Quốc, Malaysia, cũng như ở nhiều nước khác [2].

Kết quả các đột biến β -thalassemia trong nghiên cứu này khác nhiều so với các đột biến β -thalassemia ở các nước khu vực Địa Trung Hải và Châu Âu [125].

Bảng 4.5. Các đột biến β -thalassemia phổ biến ở một số nước Châu Âu, Địa Trung Hải [125]

Quốc gia	Đột biến		Quốc gia	Đột biến	
Pháp	CD39 C – T	41,9%	Italia	CD39 C – T	41%
	IVS 1-110 G – A	25,7%		IVS 1-110 G – A	23,5%
	IVS 1-1 G – A	10,5%		IVS 1-6 T – C	10,1%
	IVS 1-6 T – C	8,6%		IVS 1-1 G – A	10,1%
Tây Ban Nha	CD39 C – T	50%	Hy Lạp	IVS 1-110 G – A	43,1%
	IVS 1-110 G – A	16,5%		CD39 C – T	20,9%
	IVS 1-6 T – G	12,6%		IVS 1-1 G – A	13,5%
	IVS 1-1 G – A	11,5%		IVS 1-6 T – C	8,6%
Bồ Đào Nha	CD39 C – T	37,3%	Cyprus	IVS 1-110 G – A	78,4%
	IVS 1-1 G – A	21%		IVS 1-6 T – C	6,4%
	IVS 1-1 T – C	19%		IVS 2-745 C – G	5,7%
	IVS 1-110 G – A	11,5%			
Vương Quốc Anh	CD39 C – T	34,8%	Sardinia	CD39 C – T	95,7%
	CD 121 G – A	13,0%		CD6 – A	
	IVS 1-1 G – A	8,7%		IVS 2-745 C – G	
	CD5 – CT	8,7%			



Hình 4.4. Tính không đồng nhất và tần số đột biến khác nhau ở 8 nước Châu Âu, Địa Trung Hải. Tần số đột biến phổ biến nhất ở các nước có màu đỏ [125]

4.2.2. Phân bố đột biến gen β -globin ở bệnh nhi β -thalassemia theo vị trí và chức năng gen

Vị trí đột biến gen có ý nghĩa lớn với chức năng gen, biểu hiện gen, do đó chúng tôi cố gắng sắp xếp phân bố các đột biến đã phát hiện được trong nghiên cứu này theo vị trí và chức năng gen. Theo Hiệp hội Thalassemia quốc tế, các đột biến gen β -thalassemia được chia thành 3 lớp đột biến chính ở nhiều vị trí khác nhau.

(1) Đột biến phiên mã, ở vùng khởi động và vị trí không phiên mã 5'-UTR. Đột biến này ảnh hưởng đến trình tự khởi động phiên mã, nên làm giảm tổng hợp mạch β -globin, mạch β -globin chỉ còn khoảng 10% so với biểu hiện gen β -globin bình thường, tạo ra kiểu hình β^+ -thalassemia.

(2) Đột biến ở tiến trình hoàn thiện RNA ảnh hưởng đến quá trình thông tin mRNA, gây biến đổi nucleotide. Tùy thuộc vào một phần điểm nối còn nguyên vẹn hay bị biến đổi hoàn toàn mà dẫn đến β^+ -thalassemia hay β^0 -thalassemia. Đột biến ở vị trí kết nối, ở intron, exon thường gây β^0 -thalassemia, còn ở vị trí 3'-UTR gây β^+ -thalassemia.

(3) Đột biến dịch mã RNA ảnh hưởng làm chấm dứt chuỗi gián đoạn β -globin RNA, nên không tổng hợp được mạch β -globin gây β^0 -thalassemia [30].

Kết quả nghiên cứu trình bày ở hình 3.1 theo phân loại đột biến gen β -thalassemia theo vị trí cho thấy, phổ biến đột biến ở exon, ở exon 2 là 59,6%, ở exon 1 là 30%; ít phổ biến hơn ở vị trí intron, intron 2 là 2,9%, intron 1 là 1,9%, còn đột biến ở vùng khởi động chỉ là 4,3%.

Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.19 cho thấy phần lớn đột biến xảy ra ở quá trình dịch mã RNA (89,4%), ít hơn ở tiến trình hoàn thiện RNA (4,8%) và quá trình phiên mã (4,3%).

Từ đó chúng tôi có thể rút ra kết luận, ở Việt Nam β^0 -thalassemia phổ

biến hơn β^+ -thalassemia nhiều. Kết quả các đột biến phát hiện được trong nghiên cứu này ở bảng 3.18 cho thấy 141/208 đột biến phát hiện được là β^0 , chiếm 68% các đột biến, nhận xét này phù hợp với các nghiên cứu trước đây đã có ở Việt Nam, và phù hợp với đặc điểm β -thalassemia ở khu vực Đông Nam Châu Á. Từ năm 1987, Nguyễn Công Khanh chỉ dựa vào lâm sàng và điện di hemoglobin không có HbA1, đã có nhận xét β -thalassemia ở Việt Nam phần lớn là thể β^0 -thalassemia [115]. Nghiên cứu thalassemia ở khu vực Đông Nam Châu Á, Suthat Fucharoen và cs. năm 1992, Weatheral D.J năm 1998 đã xác định β^0 -thalassemia nhiều hơn β^+ -thalassemia [126]. Do đó về lâm sàng, β -thalassemia ở Việt Nam sẽ gặp thể nặng nhiều hơn.

4.2.3. Phân bố theo kiểu gen

Kết quả ở bảng 3.20., trong 208 alen đột biến phát hiện được ở 104 bệnh nhân nghiên cứu này, đã phát hiện 25 kiểu gen phối hợp đột biến. Có 5 kiểu gen phối hợp đột biến phổ biến nhất là CD17 – CD26, CD41/42 – CD26, CD41/42 – CD17, CD41/42 – CD41/42, CD17 – CD17 với tỷ lệ 20,2 %, 19,2%, 14,4%, 8,7%, 7,7% theo thứ tự, còn lại là các kiểu gen phối hợp đột biến ít phổ biến với tỷ lệ 2,9%, 1,9% và 0,96%. Phân loại kiểu gen phối hợp đột biến thành 5 kiểu gen lớn $\beta^0 \beta^0$, $\beta^+ \beta^+$, $\beta^0 \beta^+$, $\beta^0 \beta^E$ và $\beta^+ \beta^E$ như sau:

Kiểu gen $\beta^0 \beta^E$ là thể dị hợp tử β – thalassemia phối hợp với HbE có 47 bệnh nhân là kiểu gen phổ biến nhất, tỷ lệ 45,2%, với 6 kiểu gen phối hợp, gồm CD17 – CD26, CD41/42 – CD26, CD71/72 – CD26, IVS1.1 – CD26, IVS1.5 – CD26, IVS95 – CD26.

Kiểu gen $\beta^0 \beta^0$ có 40 bệnh nhân là kiểu gen phổ biến thứ hai, tỷ lệ 38,46%, trong đó có 17 là thể đồng hợp tử β -thalassemia với 2 kiểu gen phối hợp đột biến CD41/42 – CD41/42 và CD17 – CD17; và 23 bệnh nhân là dị hợp tử kép β - thalassemia với 5 kiểu gen phối hợp đột biến, gồm CD41/42 – CD17, CD17 – CD71/72, CD41/42 – CD71/72, CD41/42 – CD95 và CD41/42 – IVS1.5.

Kiểu gen $\beta^0 \beta^+$ là thể dị hợp tử kép β -thalassemia có 14 bệnh nhân là

kiểu gen phổ biến thứ ba, tỷ lệ 13,46%, với 9 kiểu gen phối hợp đột biến, gồm -28 – CD17, -28 – CD41/42, -88 – CD41/42, CD17 – IVS2.654, CD41/42 – IVS2.654, CD71/72 – IVS2.654, IVS1.1 – IVS2.654, -140 – CD17 và CD17 – c.441 – c.442 ins AC.

Kiểu gen $\beta^+\beta^E$ là thể dị hợp tử β -thalassemia phối hợp HbE có 2 bệnh nhân, là kiểu gen ít phổ biến, tỷ lệ 1,92%, với 2 kiểu gen phối hợp đột biến là -28 – CD26, -88 – CD26.

Kiểu gen $\beta^+\beta^+$ là thể dị hợp tử kép β -thalassemia có 1 bệnh nhân, là kiểu gen ít phổ biến, tỷ lệ 0,96% với kiểu gen phối hợp đột biến IVS2.654 – 2,3 kb del.

Kết quả phân loại đột biến gen HBB gây β -thalassemia trong nghiên cứu này khá phù hợp với hai nghiên cứu gần đây tại miền Bắc. Phạm Thị Ngọc Nga và cs (2018) nghiên cứu 92 bệnh nhi dưới 15 tuổi mắc bệnh β -thalassemia ở 13 tỉnh thành Đồng bằng Sông Cửu Long, miền Nam đã phát hiện 184 đột biến gen HBB với 10 loại đột biến phân ra 32 kiểu gen phối hợp 2 đột biến, kiểu gen $\beta^0\beta^E$ phổ biến nhất, sau đó đến kiểu gen $\beta^0\beta^0$ và $\beta^0\beta^+$ [134]. Bạch Thị Như Quỳnh và cs (2018) nghiên cứu 181 bệnh phẩm bệnh nhân β -thalassemia tuổi từ 2 tháng đến 71 tuổi, đã phát hiện thấy 141 đột biến gen HBB với 9 dạng đột biến, phân ra 18 kiểu gen phối hợp đột biến, kiểu gen $\beta^0\beta^E$ phổ biến nhất, sau đó đến kiểu gen $\beta^0\beta^0$ và $\beta^0\beta^+$ [135].

4.2.4. Phân bố đột biến gen β -thalassemia theo dân tộc

Trong 104 bệnh nhân nghiên cứu, có 71 người là dân tộc Kinh, 12 người dân tộc Thái, 10 người dân tộc Tày, còn lại 11 người dân tộc khác, gồm người Mường, Nùng, Sán Dìu, Dao và Bố Y. Trong 208 đột biến gen đã phát hiện trong nghiên cứu này, 142 đột biến ở người Kinh, 24 ở dân tộc Thái, 20 ở dân tộc Tày và 22 ở các dân tộc còn lại. Kết quả ở bảng 3.22 cho thấy, cả 4 loại đột biến phổ biến là CD41/42, CD17, CD26, CD71/72 đều là đột biến

phổ biến ở các dân tộc ít người. Các đột biến ít gặp hơn cũng là các đột biến ít phổ biến ở các dân tộc.

So sánh các đột biến phổ biến ở các dân tộc, được trình bày ở các bảng 3.21, 3.22., 3.23, 3.24, cho thấy, các đột biến phát hiện được phần lớn không khác biệt giữa các dân tộc, trừ đột biến CD26 (GAG – AAG). Đột biến CD26 gặp nhiều nhất ở dân tộc Thái (50%), sau đó đến dân tộc Kinh (23,2%), ít hơn ở dân tộc Tày (5%), với $p < 0,005$. Đột biến CD26 là đột biến có kiểu hình HbE ở miền Bắc Việt Nam, tần số lưu hành HbE ở người dân tộc Thái cao nhất (20,3%), sau đó đến dân tộc Kinh (1,4%), ít hơn ở dân tộc Tày (1%) [xem bảng 1.1]. Đột biến -28 có tần số cao ở dân tộc Tày (5%) hơn dân tộc Kinh (2,1%) với $p = 0,04$.

4.3. Đối chiếu kiểu gen-kiểu hình β -thalassemia

4.3.1. Đối chiếu kiểu gen với lâm sàng β -thalassemia

Đối tượng nghiên cứu trong nghiên cứu này là những bệnh nhân β -thalassemia cần vào viện để điều trị, bao gồm 55 bệnh nhi β -thalassemia (63% số bệnh nhân nghiên cứu) và 49 bệnh nhi β – thalassemia /HbE (47% bệnh nhân nghiên cứu), không có người mang gen β – thalassemia không có triệu chứng lâm sàng. Kết quả nghiên cứu đã phát hiện 208 alen đột biến gen β – globin với 13 dạng đột biến như đã trình bày ở trên. Phân bố các dạng đột biến cho hai thể bệnh nghiên cứu được trình bày ở bảng 3.25 cho thấy tất cả các dạng đột biến phân bố cho cả hai thể lâm sàng. Các đột biến CD41/42, CD17, CD71/72 phân bố cho thể β – thalassemia không phối hợp với HbE nhiều hơn β – thalassemia/HbE. Các đột biến CD41/42, CD71/72, CD17 là các đột biến ở vị trí exon, thuộc đột biến dịch mã RNA, không tổng hợp được mạch β – globin, tạo ra kiểu hình β^0 – thalassemia [30], thường thấy ở thể bệnh nặng nhiều hơn.

Kết quả trình bày ở bảng 3.26 trong phần kết quả nghiên cứu cho thấy

các đột biến phân bố cho cả 3 thể lâm sàng: nặng, trung gian và nhẹ. Kết quả phân loại mức độ bệnh ở bảng 3.9, trong 104 bệnh nhân nghiên cứu: 73 là thể nặng (tỷ lệ 70,2%), 28 là thể trung gian (26,9%), và 3 là thể nhẹ (tỷ lệ 2,9%). Các đột biến CD41/42, CD 17, CD71/72 liên quan nhiều đến thể lâm sàng nặng, lần lượt là 81%, 77,4% và 9/10 (90%). Các đột biến này chỉ thấy ở thể nặng và trung gian, không thấy ở thể nhẹ. Kết quả nghiên cứu về liên quan giữa kiểu phối hợp đột biến gen với mức độ bệnh (bảng 3.27) cũng cho thấy các đột biến CD41/42, CD17, CD71/72 thường liên quan với thể bệnh β -thalassemia nặng; đồng hợp tử CD41/42, CD17 100% là thể nặng. Còn kiểu phối hợp một đột biến với đột biến CD26 có thể liên quan với thể bệnh nặng, trung gian hay nhẹ. Điều này có thể giải thích vì các đột biến này là các đột biến thuộc gen β^0 -globin, nghĩa là không tổng hợp được mạch β -globin, như vừa bàn luận ở trên. Đột biến CD26 liên quan đều cho cả thể nặng, trung gian (51% và 44,9%), chỉ 4,1% cho thể nhẹ. Các đột biến khác không nhiều, song thấy ở cả thể nặng và trung gian. Các đột biến hiếm gặp trong nghiên cứu này như -140, c.441-c442 ins AC và 2.3 kb deletion chỉ thấy ở thể trung gian và nhẹ. Như vậy, các đột biến phát hiện được trong nghiên cứu này liên quan chủ yếu với thể lâm sàng nặng và trung gian. Điều này được giải thích do đối tượng nghiên cứu chỉ là bệnh nhân nặng hoặc trung gian phải vào viện điều trị, đối tượng nghiên cứu không có những người mang gen β -thalassemia ở cộng đồng, do đó các đột biến liên quan đến thể nhẹ và thể ẩn còn chưa thấy ở nghiên cứu này (xem bảng 1.9 về các đột biến β -thalassemia tạo ra thể ẩn và nhẹ).

Beta-thalassemia là một hội chứng bệnh rất không đồng nhất (heterogeneous) về phân tử. Trên 200 đột biến rất khác nhau đã được phát hiện. Phần lớn các đột biến β -thalassemia là đột biến điểm, bị thay thế (substitution), hoặc bị mất đoạn (deletion), hoặc gắn thêm (insertion) một nucleotide vào oligonucleotid, làm dịch khung (frameshift). Những đột biến điểm ảnh hưởng đến biểu hiện gen HBB ở 3 khu vực khác nhau:

(1). Đột biến làm sai lệch sự phiên mã (transcription) gen β (ở vùng khởi động và đột biến ở vùng 5' UTR).

(2). Đột biến tác động đến tiến trình hoàn thiện RNA thông tin (mRNA) (đột biến ở vị trí kết nối, ở chuỗi đồng thuận, ở polyadenyl hóa, và ở vị trí 3'-UTR).

(3). Và đột biến làm sai lệch dịch mã của RNA thông tin (đột biến vô nghĩa, đột biến dịch khung, đột biến codon) (xem bảng 1.4).

Kết quả nghiên cứu trong bảng 3.19 cho thấy phần lớn các đột biến trong nghiên cứu là đột biến dịch mã RNA (89,4% các đột biến). Đây là đột biến β^0 , gây bệnh nặng hơn, không tổng hợp được mạch β -globin. Các đột biến ở khu vực phiên mã gặp ít trong nghiên cứu này, chỉ có 4,3% là các đột biến β^+ và β^{++} , gây bệnh nhẹ hơn, vì còn tổng hợp được mạch β – globin. Nghiên cứu liên quan giữa kiểu gen – kiểu hình β -thalassemia, Galanello R. và cs (2011) cho rằng, kiểu hình lâm sàng β -thalassemia rất không đồng nhất phụ thuộc vào sự thay đổi đột biến gen globin [136]. Asadov C. và cs (2017) cho rằng biểu hiện lâm sàng thay đổi theo đột biến gen β – globin. Các đột biến IVS1.6 (T – C) biểu hiện lâm sàng nhẹ hơn đột biến CD8 (-AA) và IVS2-1 (G – A) [137].

Kết quả phân loại đột biến gen HBB theo kiểu gen ở bảng 3.20 cho thấy đã phát hiện 25 kiểu gen phối hợp đột biến ở 104 bệnh nhân β – thalassemia nghiên cứu, phân ra nhóm 5 kiểu gen, gồm: $\beta^0\beta^0$, $\beta^+\beta^+$, $\beta^0\beta^+$, $\beta^0\beta^E$ và $\beta^+\beta^E$. Chúng tôi muốn bàn luận về liên quan giữa kiểu gen và biểu hiện lâm sàng ở 3 nhóm kiểu gen có số lượng nhiều hơn là kiểu gen $\beta^0\beta^0$, $\beta^0\beta^+$, $\beta^0\beta^E$.

Kết quả trình bày ở bảng 3.28 về sự liên quan giữa kiểu gen với biểu hiện lâm sàng β – thalassemia cho thấy biểu hiện lâm sàng của 3 nhóm kiểu gen có phần khác nhau. Biểu hiện lâm sàng của kiểu gen $\beta^0\beta^0$, $\beta^0\beta^+$, $\beta^0\beta^E$ lần lượt như sau:

Tuổi phát bệnh lần lượt là: $0,97 \pm 1,22$; $1,28 \pm 0,87$ và $2,77 \pm 0,72$ tuổi.

Tuổi bắt đầu phải truyền máu là: $1 \pm 0,4$, $1,32 \pm 0,76$ và $2,48 \pm 2,1$ tuổi.

- Mức độ thiếu máu nặng thứ tự là 50%, 28,6% và 29,8%.
- Tỷ lệ lách to 90%, 78,6% và 76,6%.
- Tỷ lệ gan to lần lượt là: 60%, 71,4%, 51%.
- Tỷ lệ biến dạng xương lần lượt là: 32,5%, 42,8% và 23,4%.
- Chậm tăng trưởng cân nặng là: 57,5%, 57,1% và 42,6%.
- Chậm tăng trưởng chiều cao là: 60%, 64,3% và 42,6%.

Có sự khác biệt rõ rệt về biểu hiện lâm sàng của các thể bệnh có các kiểu gen đột biến khác nhau. Biểu hiện lâm sàng của thể gen $\beta^0\beta^0$ nặng hơn thể bệnh có kiểu gen $\beta^0\beta^+$ và $\beta^0\beta^E$, tuổi phát bệnh, tuổi bắt đầu phải truyền máu sớm hơn, mức độ thiếu máu nặng hơn ($p < 0,05$). Nguyên do có sự khác biệt này là do ở thể bệnh có kiểu gen $\beta^0\beta^0$, không tổng hợp được mạch β -globin, sự mất cân bằng giữa tỷ lệ mạch α / mạch không α -globin lớn hơn hai thể bệnh có kiểu gen $\beta^0\beta^+$ và $\beta^0\beta^E$.

So sánh biểu hiện lâm sàng giữa thể bệnh có kiểu gen $\beta^0\beta^+$ và $\beta^0\beta^E$ là các thể lâm sàng dị hợp tử kép và phối hợp với HbE, không thấy khác nhau rõ rệt, mức độ thiếu máu nặng và các biểu hiện lâm sàng không thấy khác nhau. Nguyên do là còn tổng hợp được một phần mạch β - globin, cho nên sự mất cân bằng giữa mạch alpha/ mạch không alpha globin ít hơn. Từ những kết quả trên có thể đi tới kết luận có sự liên quan rõ ràng giữa kiểu gen - kiểu hình lâm sàng β - thalassemia. Nhận xét này phù hợp với nhiều nghiên cứu khác của quốc tế [136], [137], [138], [139][140].

Để hiểu biết đầy đủ sự liên quan giữa kiểu gen và lâm sàng cần nhấn mạnh đến điều cơ bản về cơ chế bệnh sinh của β -thalassemia. Bệnh sinh cơ bản của β -thalassemia là không tổng hợp hoặc tổng hợp được ít mạch β -globin do đột biến gen β -globin, phụ thuộc vào kiểu hình β^0 - thalassemia hay β^+ -

thalassemia. Do thiếu mạch β globin để kết hợp với mạch globin α thành globin của HbA1, nên thừa dư nhiều mạch globin α . Biểu hiện lâm sàng, mức độ nặng của β -thalassemia phụ thuộc vào sự mất cân bằng giữa mạch α - globin/mạch không α - globin. Do đó, bất kỳ một yếu tố nào làm giảm sự mất cân bằng giữa mạch α - globin với mạch không α - globin sẽ làm thay đổi hình ảnh lâm sàng bệnh β - thalassemia. Theo Antonico Cao và cs. 2010 [140] và Swee Lay Thein, 2013 [138] đã nêu lên 3 lý do có thể làm giảm nhẹ lâm sàng β -thalassemia nặng:

(1). Có tình trạng đồng hợp tử của alen nhẹ hay ảm, tạo ra thể β thalassemia trung gian. β thalassemia nhẹ có thể do kiểu gen B - ảm/ β - nhẹ hay β - ảm / β - nặng [138].

(2). Phối hợp đồng hợp tử β -thalassemia và α -thalassemia, làm giảm tổng hợp mạch α - globin, làm giảm sự mất cân bằng mạch α /mạch không α - globin. Một gen α - globin bị mất, đủ để cải thiện kiểu hình lâm sàng của β^+ -thalassemia. Với β^0 - thalassemia, cả hai gen α - globin bị mất (deletion), hoặc có đột biến gen α_2 - globin nặng, đủ để cải thiện lâm sàng β^0 - thalassemia [140] [141].

(3). Có kèm di truyền sự tồn tại sản sinh mạch gamma globin làm giảm tình trạng mất cân bằng mạch α - globin/mạch không α - globin. Cơ chế này có thể xảy ra trong $\delta - \beta^0$ - thalassemia [142].

Trong nghiên cứu này, sự khác biệt về biểu hiện lâm sàng là do sự khác biệt về kiểu gen do phối hợp đột biến, chưa phát hiện trường hợp nào có tình trạng đồng hợp tử hai alen nhẹ hay ảm, cũng như phối hợp với đồng hợp tử α thalassemia và $\delta - \beta^0$ -thalassemia.

4.3.2. Đối chiếu kiểu gen với huyết học

Kết quả nghiên cứu trình bày ở bảng 3.29. về sự tương quan giữa kiểu gen β - globin với một số chỉ số hồng cầu cho thấy có sự thay đổi lớn về một số chỉ số hồng cầu, đặc biệt là thể tích trung bình hồng cầu (MCV)

và hemoglobin trung bình hồng cầu (MCH). Hầu hết MCV, và MCH ở cả 3 kiểu gen $\beta^0\beta^0$, $\beta^0\beta^+$ và $\beta^0\beta^E$ đều nhỏ hơn 75fl và dưới 28pg. Kết quả này rất giống kết quả nghiên cứu về lâm sàng, huyết học ở trong nước trước đây về β – thalassemia và β – thalassemia/HbE của Nguyễn Công Khanh và Bùi Văn Viên [115] [116], cũng như trong y văn quốc tế [143]. Hồng cầu nhỏ và nhược sắc là một đặc điểm của β – thalassemia. Chỉ số MCV và MCH được sử dụng để sàng lọc thalassemia. Cơ chế chính của đặc điểm huyết học này là do kém tổng hợp hemoglobin, sinh hồng cầu không hiệu quả ở tủy xương, vì có đột biến gen β – globin. Nồng độ hemoglobin trong β – thalassemia ở nghiên cứu này cũng thấy còn ở giới hạn bình thường, chỉ MCV và MCH giảm. Kết quả ở bảng 3.29 còn chỉ ra là các chỉ số MCV, MCH, MCHC ở cả 3 kiểu gen $\beta^0\beta^0$, $\beta^0\beta^+$ và $\beta^0\beta^E$ đều giảm tương đương, chưa thấy khác biệt nhau rõ rệt.

Thành phần hemoglobin thay đổi khá đặc hiệu cho từng kiểu gen. Kết quả ở bảng 3.30 cho thấy:

- Với kiểu gen $\beta^0\beta^0$, HbA₁ không có, thành phần Hb chủ yếu là HbF và một phần HbA₂. HbF tăng tới $94,5 \pm 3,2\%$ lượng Hb toàn phần, còn HbA₂ tăng nhẹ, không tăng quá 10% Hb toàn phần.

- Bệnh nhân có kiểu gen, $\beta^0\beta^+$, dị hợp tử kép β – thalassemia, HbA₁ giảm còn $64,8 \pm 15,2\%$, HbF tăng cao tới $40,02 \pm 14,3\%$, còn HbA₂ có tỷ lệ bình thường hay tăng nhẹ, trung bình là $3,08 \pm 1,9\%$ Hb toàn phần.

- Bệnh nhân β – thalassemia phối hợp với HbE, với kiểu gen $\beta^0\beta^E$, HbA₁ không có, HbF tăng cao, trung bình là $51,9 \pm 13,8\%$, có nhiều HbE, trung bình HbE là $40,2 \pm 11,5\%$ Hb toàn phần, còn HbA₂ trong giới hạn bình thường hay tăng nhẹ với tỷ lệ trung bình là $2,4 \pm 1,6\%$ Hb toàn phần.

Kết quả về thành phần hemoglobin này phù hợp với các kết quả nghiên cứu về thành phần hemoglobin ở bệnh nhân β^0 -thalassemia, β^+ -

thalassemia và β^0 -thalassemia/HbE trong các nghiên cứu ở người Việt Nam trước đây [6] [115] [116] [117].

Kết quả này rất dễ giải thích, đã được trình bày ở phần tổng quan. Các đột biến gen HBB có kiểu hình β^0 sẽ không tổng hợp được mạch β -globin. Các đột biến gen HBB có kiểu hình β^+ còn tổng hợp một phần mạch β -globin. Với kiểu gen $\beta^0\beta^0$ do không tổng hợp được mạch β -globin nên không có HbA₁. Với kiểu gen $\beta^0\beta^+$, do còn tổng hợp được một phần mạch β -globin nên HbA₁ còn, nhưng giảm. Do không có hay giảm mạch β -globin, lượng mạch α -globin thừa, sẽ tổng hợp với các mạch globin gamma hay delta, kết quả làm tăng tỷ lệ HbF và HbA₂. Như vậy thành phần hemoglobin phụ thuộc rất nhiều vào đột biến gen β -globin. Có sự liên quan rất chặt chẽ giữa kiểu gen và kiểu hình hemoglobin. Tùy thuộc vào kiểu gen đột biến, biểu hiện lâm sàng, thay đổi thành phần hemoglobin có mức độ khác nhau.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu 104 bệnh nhi β -thalassemia có thể rút ra kết luận:

1- Kiểu hình lâm sàng, huyết học bệnh nhi β -thalassemia khá đặc hiệu

Bệnh biểu hiện rất sớm, 88,4% dưới 5 tuổi, 55,7% dưới 1 tuổi. Biểu hiện lâm sàng rất đa dạng, thể hiện ba hội chứng: thiếu máu tan máu mạn tính nặng (64,9% phụ thuộc truyền máu), nhiễm sắt và chậm tăng trưởng. Hầu hết là β -thalassemia thể nặng (70,2%) và trung gian (26,9%), hơn nửa thể trung gian lại có biểu hiện giống như thể nặng; β -thalassemia, nặng hơn β -thalassemia/HbE.

Kiểu hình huyết học khá đặc hiệu, Hb giảm nhiều, MCV nhỏ ($70,7 \pm 8$ fl), hồng cầu nhược sắc, MCH giảm ($23 \pm 3,6$ pg). Thành phần hemoglobin thay đổi đặc hiệu cho từng thể bệnh. Với β -thalassemia, HbA₁ giảm nhiều hoặc không có, HbF tăng cao, HbA₂ tăng nhẹ. Với β -thalassemia/HbE, HbA₁ giảm, HbF tăng cao, có nhiều HbE.

2- Đột biến gen HBB ở bệnh nhân β -thalassemia rất đa dạng

- Trong số 208 alen đột biến ở 104 bệnh nhân β -thalassemia phát hiện 13 dạng đột biến. Có 4 dạng đột biến phổ biến nhất là CD41/42, CD17, CD26 và CD71/72 với tỷ lệ lần lượt là 30,3%, 30%, 23,5% và 4,8%. Có 9 dạng đột biến ít phổ biến hơn là IVS2.654, -28, -88, CD95, IVS1.1, IVS 1-5, -140, c.441 – c.442 ins AC, và 2,3kb deletion với tỷ lệ từ 0,96-2,9%.

Chưa thấy sự khác biệt nhiều về phân bố các đột biến ở các dân tộc, trừ CD26 và -28. Đột biến CD26 thấy nhiều ở dân tộc Thái (50%), hơn Kinh (23,2%), và Tày (5%). Đột biến -28 ở dân tộc Tày và Kinh có sự khác biệt.

- Phần lớn các đột biến xảy ra ở tiền trình dịch mã RNA (89,4%), hơn tiền trình hoàn thiện RNA (4,8%) và phiên mã (4,3%); nhiều ở exon hơn intron và vùng khởi động. Đa số đột biến có kiểu hình β^0 (68%), nhiều hơn kiểu hình β^+ . Đã phát hiện 25 kiểu gen phối hợp đột biến, 5 kiểu phối hợp đột biến phổ biến nhất là CD17-CD26, CD41/42-D26, CD41/42-CD17,

CD41/42–CD41/42 và CD17–CD17. Các kiểu phối hợp đột biến được chia thành 5 nhóm kiểu gen : $\beta^0\beta^0$ (38,46%) với 5 kiểu phối hợp đột biến, trong đó có 17 là thể đồng hợp tử và 23 là thể dị hợp tử kép, $\beta^+\beta^+$ (0,96%) với 1 kiểu phối hợp, $\beta^0\beta^+$ (13,46%), với 9 kiểu phối hợp đột biến, $\beta^0\beta^E$ (45,2%) với 6 kiểu phối hợp và $\beta^+\beta^E$ (1,92%), với 2 kiểu phối hợp đột biến.

3- Có sự liên quan giữa kiểu hình-kiểu gen β -thalassemia thể nặng và trung gian

- Các đột biến *CD41/42*, *CD17*, *CD71/72* hoặc các kiểu phối hợp các đột biến này với các đột biến khác liên quan với thể lâm sàng nặng và trung gian, Đột biến *CD26* hoặc các kiểu phối hợp với đột biến khác thấy nhiều ở các thể lâm sàng nặng và trung gian, ngoài ra có thể thấy ít ở thể nhẹ.

- *Lâm sàng ở kiểu gen $\beta^0\beta^0$ biểu hiện nặng hơn kiểu gen $\beta^0\beta^+$, $\beta^0\beta^E$. Không có sự khác biệt về lâm sàng giữa kiểu gen $\beta^0\beta^+$ và $\beta^0\beta^E$.*

- *Thành phần hemoglobin phụ thuộc vào kiểu gen, HbA₁ không có ở kiểu gen $\beta^0\beta^0$, $\beta^0\beta^E$, giảm ở kiểu gen $\beta^0\beta^+$; HbE chỉ có ở kiểu gen $\beta^0\beta^E$ và $\beta^+\beta^E$.*

KIẾN NGHỊ

1. Nghiên cứu đột biến gen ở bệnh nhân mắc bệnh hemoglobin có ý nghĩa lớn trong chẩn đoán, tiên lượng bệnh, đặc biệt là cơ sở khoa học cho việc tư vấn di truyền, dự phòng bệnh hemoglobin. *Cần mở rộng nghiên cứu thêm ở nhiều vùng, dân tộc người Việt Nam*

2. Còn ít nghiên cứu về liên quan giữa kiểu gen – kiểu hình bệnh *thalassemia* và các bệnh hemoglobin khác, *cần tiếp tục nghiên cứu* để hiểu biết đầy đủ hơn và là cơ sở điều trị tốt hơn bệnh về hemoglobin

3. Các đột biến *CD41/42*, *CD17*, *CD71/72* hoặc các kiểu gen phối hợp giữa các đột biến này với các đột biến khác liên quan nhiều đến β -thalassemia nặng và trung gian. Trong chẩn đoán trước sinh, *nếu phát hiện thấy các kiểu gen phối hợp đột biến này có thể xem xét đình chỉ thai.*

**DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU ĐÃ CÔNG BỐ
CỦA TÁC GIẢ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

1. Nguyễn Hoàng Nam, Lý thị Thanh Hà, Dương Bá Trực, Bùi Văn Viên, Ngô Diễm Ngọc (2017). Đột biến gen ở bệnh nhân β thalassemia tại bệnh viện nhi trung ương, *Tạp chí Nhi Khoa*, (10,5), tr. 46 – 51.
2. Nguyễn Hoàng Nam, Lý Thị Thanh Hà, Dương Bá Trực, Bùi Văn Viên, Ngô Diễm Ngọc (2013). Một số đặc điểm lâm sàng, huyết học theo kiểu gen ở bệnh nhân β thalassemia, *Tạp chí Nhi Khoa*, (6,6), tr.18 – 21.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Công Khanh (2008). Thalassemia-Huyết học lâm sàng Nhi khoa. Xuất bản lần 2. Nhà xuất bản Y học: 132-146.
2. Galanello R, Eleftheriou A, Old J, Petrou M, Angastinictis M. (2005). Prevention of Thalassemia and other Hemoglobin Disorders. Thalassemia International Federation Publications. V 1: 10.
3. Nguyễn Công Khanh (1993). Tần số bệnh hemoglobin ở Việt Nam. Y học Việt Nam: 174 (8): 11-16.
4. Nguyễn Công Khanh, Dương Bá Trục, Lý Tuyết Minh và cs (1987). Sự lưu hành bệnh huyết sắc tố ở một số người dân tộc miền bắc. Y học Việt Nam, 4: 9-15.
5. Nguyễn Công Khanh, Dương Bá Trục, Đỗ Minh Cầm và cs (1985). Tần số bệnh β -thalassemia và hemoglobin E tại Liên Hà, Đông Anh, Hà Nội. Y học Việt Nam, 2: 25-30.
6. Nguyễn Công Khanh, Dương Bá Trục (1993). B-thalassemia và hemoglobin E tại Viện Bảo vệ Sức khỏe Trẻ em: Y học Việt Nam 174 (8): 23-30.
7. Nguyễn Công Khanh (2008). Hemoglobin bình thường và phân loại bệnh hemoglobin. Huyết học lâm sàng Nhi khoa, XB lần 2, NXB Y học: 124-132.
8. Filon DO, Richmilewitz EA, Kot A, Bá Trục Dương (2000). Molecular analysis of β -thalassemia in Vietnam. Hemoglobin 24 (2): 99-104.
9. Nguyễn Khắc Hân Hoan, Phạm Việt Thanh, Trương Đình Kiệt và cs (2011). “Nghiên cứu tầm soát và chẩn đoán trước sinh đột biến gen thalassemia”. Tạp chí nghiên cứu Y học, tập 73 (2), 1-8.
10. Lê Thị Hào, Pissard S, Van PH và cs (2001). Molecular analysis of β -thalassemia in South Vietnam Hemoglobin 25: 305-309.

11. Saovaros S, Trần Minh Hiếu, Thongperm M và cs(2002). Molecular analysis of β -thalassemia in South Vietnam, *J of Hemoglobin* 71: 85-88.
12. Trần Văn Bé, Trần Minh Hiếu (2003). Phát hiện 8 đột biến gây bệnh β -thalassemia ở Đông Nam Á bằng phương pháp ASO. *Y học Việt Nam* 2003: 1-5.
13. Modell B (2008). Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. *Public health reviews. Bulletin of WHO*: 480-487.
14. Weatherall DJ, Clegg JB (2001). *The Thalassemia syndromes*. Oxford Blackwell Science: 191.
15. Brown JM, Thein SL, Mar KM, Weatherall DJ (1989). The spectrum of β -thalassemia in Burma. *Hemoglobin Switching*: 161-169.
16. Laig M, Sanguasermesri T, Wiangnon S (1989). The spectrum of β -thalassemia mutation in Northern Thailand. *Human Genetics* 84:47-50.
17. Fucharoen S, Winichagoon P (1997). Hemoglobinopathies in Southeast Asia. *Hemoglobine* 21 : 299-319.
18. Kenvin TM, Arthur WN (1993). The Thalassemia. In : Nathan DG., Oski FA (eds). *Hematology of Infancy and Childhood*, 4th ed. Saunders Company : 785-805.
19. Nguyễn Công Khanh (2008). Hemoglobin bình thường và phân loại bệnh hemoglobin. *Huyết học lâm sàng Nhi khoa, XB lần 2, NXB Y học* : 124-132.
20. Karlsson S, Nienhuis AW (1985). Developmental regulation of human globin genes *Annu. Rev. Biochem.* 54: 107.
21. Collins FS., Weissman SM (1984). The molecular genetics of human hemoglobin. *Prog.Nucl. Acid Res. Mol. Biol.* 31: 3
22. Deisseroth A., Nienhuis AW (1977). Localization of the human α -globin structural gene to chromosome 16 somatic cell. *Cell*.12: 205.
23. Deisseroth A., Nienhuis AW (1978). Chromosomal localization of the human β -globin gene on chromosome 11 somatic cell. *Proc. Acad. Sci. USA.* 75: 1459.

24. Higgs DR, Vickers MA (1989). A review of the molecular genetics of the human α -globin gene cluster. *Blood* 73: 1081.
25. Liebhaber SA (1989). Alpha-thalassemia. *Hemoglobin* 13: 685.
26. Proudfoot NJ, Gil A. (1982). The structure of the human zeta-globin gene and a closely linked nearly identical pseudogene. *Cell* 31: 553.
27. Fritsch EF, Lawn RM (1980). Molecular cloning and characterization of the human β -like globin gene cluster. *Cell* 19: 959.
28. Kosche KA, Dobkin C (1985). DNA sequences regulating human β -globin gene expression. *Nucleic Acids Res.* 13: 7781.
29. Weatherall DJ, Clegg JB (1981). *The Thalassemia Syndromes*, 3rd ed. Oxford, Blackwell Pull: 54.
30. Antonio Cao, Renzo Galanello (2010). β -thalassemia. *Genetics in Medicine.* 12: 61-76.
31. Antasovska B, Bozhinovski G, Chakalova L et al (2012). Molecular Diagnostics of β -thalassemia *Balkan J. Med. Genet.*, 15 (suppl): 61- 65.
32. David J. Weatherall (2005). Hemoglobin and the inherited disorders of globin synthesis. In: Avictor Hoffbrand, Daniel Catovsky, Edward G. D. Tuddenham, *Postgraduate Haematology*, 5th edition Blackwell Publishing: 85 – 103.
33. Renzo Galanello, Androrilla Eleftheriou, Joane Traeger-Synodinos et al (2005). B-thalassemia Mutation data - Frequency and distribution. *Prevention of Thalassaemias and other hemoglobin disorders. Thalassemia International Federation Publications:* 154-169.
34. Raja JV, Rach MA, Gikani RH (2012). Recent advances in gene therapy for thalassemia. *J. Phorm. Bio. Sci.* 4 (3): 194-201.
35. Kazazian HH (1990): The Thalassemia syndrome: molecular basis and prenatal diagnosis. *Seminars in Hematology* 27: 209-228.
36. Rosatelli MO, Faa V, Meloni A, Fiorenza F (1995). A promoter mutation C>T at position -92, leading to silent β -thalassemia *British Journal of Haematology*, 90: 483-485.

37. Ma SK., Chan AYY, Ha SY, Chang GCF, Chon LC (1999). Two novel β -thalassemia alleles in the Chinese. *Blood* 94 (suppl.1): 346.
38. Yamamoto K, Hatori Y, Yamashiro Y, Hoshita M (1992). Two β -thalassemia mutations in Japan. *Hemoglobin* 16: 295-302.
39. Curuk MA., Howard SC, Kutlar A, Huisman JH. (1995). A newly discovered β^0 -thalassemia mutation in North European. *Hemoglobin* 19: 207-211.
40. Jiang NH, Liang SS, Nechtman JF, Stoming TA. (1993). A novel β -thalassemia mutation in Chinese. *Hemoglobin* 17: 563-567.
41. Thalassemia International Federation (2000). Genetic basis and pathophysiology. Guidelines for Clinical Management of Thalassemia. TIF publications. April, 2000: 3-8.
42. Cunningham MJ. (2010). Update on thalassemia: clinical and complication *Hematol Oncol Clin North Am.* 24 (1): 215-227.
43. Mc Donagh KT, Nienhuis AW (1993). The Thalassemias In: Nathan DG., Oski FA. *Hematology of Infancy and Childhood*, 4th ed. Saunders: 787.
44. Cappellini MD, Cohen A, Porter J, et al (2014). Guidelines for the management of transfusion dependent thalassemia (TDT). Third edition, Thalassemia International Federation.
45. Taher A, Vichinsky E, Musallam K, et al (2013). Guidelines for the management of non transfusion dependent thalassemia (NTDT). Thalassemia International Federation
46. Modell B, Berdoukas V (1984). Cellular pathology. *The Clinical Approach to Thalassemia.* Grune and Stratton: 35-41.
47. Galanello R, Origa R (2010). B-thalassemia. *Orphanet Journal of Rare Diseases*; S: 11.
48. Modell B (1987). Total management of thalassemia major. *Archives of Diseases of Childhood*, 52: 485-500.

49. Thalassemia International Federation (2000). Thalassemia Intermedia Guidelines for the Clinical Management of Thalassemia. TIF Publications 74-81.
50. Atawascvska B, Bozhinovski G, Chakalova L, et al. (2012) Molecular Diagnostics of β -thalassemia Balkan J. Med. Genet., 15 (8): 61- 65.
51. Galanello R., Cao A. (1998). Relationship between Genotype and Phenotype of Thalassemia intermedia. Cooley's anemia. Annals of the New York Academy of Sciences, V850: 325-333.
52. Wainscoat JS. (1983). Thalassemia intermedia. The interaction of α and β -thalassemia. Br. J. Haematol. 53: 411-416.
53. Huisman THJ (1990). Silent β -thalassemia and thalassemia intermedia. Haematologica, 75: 1-8.
54. Kazazian HH (1990). The Thalassemia syndrome: molecular basis and prenatal diagnosis in 1990. Semin. Hematol 27: 209.
55. Musallam KM, Rivella S, Vichinsky E, Rachmilewitz (2013). Non-transfusion-dependent thalassemia. Haematologica, 08 (6): 833-844.
56. Gonzalez-Redondo JM, Stoming TA, Kutlar A, et al. (1989). AC \rightarrow T substitution at - 101 in a conserved DNA sequence of the promoter region of the β -globin gene in association with "silent" β -thalassemia. Blood 73: 1705-1711.
57. Kazazian HH (1990). The Thalassemia syndrome: molecular basis and prenatal diagnosis in 1990. Seminars in Hematology 27: 200-228.
58. Rosatelli MC, Faa V, Meloni A, et al (1995). A promoter mutation C \rightarrow T at position -92, leading to silent β -thalassemia. British Journal of Haematology, 90: 483-485.
59. Wong C, Dowling CE, Saiki R, et al. (1987). Characterizations of β -thalassemia mutations using direct genomic sequencing of amplified single copy DNA. Nature, 330: 384-386.

60. Ma SK, Chan AYY, Ha SY, et al (1999). Two novel β -thalassemia alleles in the Chinese.IVS II-2 (-T) β zero mutation and NT+8 (C \rightarrow T) silent β -plus mutation. *Blood* 94 (suppl.1): 346.
61. Athanassiadou ., Papachatzopoulou A, Zoumbos N, et al (1994). A novel β -thalassemia mutation in 5' untranslated region of the β -globin gene. *British Journal of Haematology*, 88: 307 – 310.
62. Kanavaski K, Waincoast JS (1982). The interaction of α -thalassemia with β -thalassemia. *Brit. J. Haematol.*, 52 : 465.
63. Cunningham MJ (2010): Update on thalassemia: *Haematol Oncol Clin North Am.* 24 (1): 215-217.
64. Galanello R, Ruggeri R, Paglietti, et al (1982). A family with segregating triplicated alpha globin loci and β -thalassemia. *Blood*, 62: 1035 – 1040.
65. Thein SL, Al - Hakim I, Hoffbrand AV. (1984). Thalassemia intermedia a new molecular basis. *Br. J. Haematol.*, 56: 333-337.
66. Kolozik AP, Thein SL, Wamscoal AV.(1987). Thalassemia intermedia interaction triple alpha-globin gene arrangement and heterozygous β -thalassemia. *Brit. J. Haematol.* 66: 109-112.
67. Kanavakis E, Mataxotou MA., Kattamis C, et al. (1983). The triplicated alpha gene locus and β -thalassemia. *Brit. J. Haematol.* 54: 201-207.
68. Thein SI. (1992). Dominant β -thalassemia molecular basis and pathophysiology. *Brit. J. Haematology* 80: 273-277.
69. Murru S, Poddie D, Sciarratta GV, et al (1992). A novel β -globin structural mutant, Hb Brescia (β 114 Low – Pro) causing a severe β -thalassemia intermedia phenotype. *Hum. Mutat.*, 1: 124-128.
70. Gonzalez – Redondo JM, Stoming TA., Kutlar A, et al (1989). A C \rightarrow T substitution at – 101 in a conserved DNA sequece of the promoter region of the β -globin gene is associated with “silent” β -thalassemia. *Blood.*73: 1705-1711.

71. Blanco I, Cappabianca MP, Foglietta E, et al (1997). Silent thalassemia genotypes and phenotypes. *Haematologica*.82: 269-280.
72. Murru S, Pischedda MC, Cao A, et al (1993). A promoter mutation of the β -globin gene (-101 C→T) has an aged related expression pattern. *Blood*. 81: 2818-2819.
73. Galanello R, Dessi E, Melis MA, et al (1989). Molecular analysis of β zero-thalassemia intermedia in Sardinia. *Blood*. 74: 823-827.
74. Wainscoat JS, Kanovokis E, Wood WG, et al (1983). Thalassemia intermedia in Cyprus, the interaction of α and β -thalassemia. *Brit. J. Haematol.*, 53: 411-416.
75. Cao A, Galanello R, Rosatelli MC (1994). Genotype – phenotype correlation in β -thalassemia. *Blood*. 8: 1-12.
76. Pirashi M, Kan VW, Galanello R. et al (1994). Multiple mutation produce delta β zero-thalassemia in Sardinia *Science*, 323: 929-930.
77. Weatherall DJ (2001). Phenotype-genotype relationship in monogenic disease: lessons from thalassemia. *Nat. Rev. Genet.*, 2: 245-255.
78. Gabbianelli M, Morsilli O, Massa A, et al (2008). Effective erythropoiesis and HbF reactivation induced by Kit ligand in β -thalassemia. *Blood* 122: 421 - 429.
79. Galanello R, Barella S, Satta S, et al (2002). Homozygosity for nondeletion delta - β zero-thalassemia resulting in a silents clinical phenotype. *Blood* 100: 1913 - 1914.
80. Sharma V, Saxena R (2009). Effect of α gene numbers on phenotype of HbE/ β thalassemia patients. *Ann Hematol* (2009) 88: 1035 - 1036.
81. Sripichal O, MunHongdee T, KumKhaek C et al (2008). Coinheritance of the different copy number of α globin gen, modifies severity of β -thalassemia/ HbE disease. *Ann Hematol* (2008) 87: 375 - 379.

82. Eleftheriou A (2003). About Thalassemia. Thalassemia International Federation Publications (4).
83. Modell B, Khan M, Darlisen M (2000). Survival in β -thalassemia major in UK, data from the UK Thalassemia Register. *The Lancet* 2000 35: 2051-2.
84. Cazzola M, Destrfano P, Porchio L, Locatelli F, Beguin Y, Dessi C, Barella S, Cao A, Gananello R (1995). Relationship between transfusion regimen and suppression of erythropoiesis in β -thalassemia major *British Journal of Haematology* 89: 473-478.
85. Cazzola M, Borgna-Pignatti C (1997). A moderate transfusion regimen may reduce iron loading in β -thalassemia major without producing excessive expansion of erythropoiesis. *Transfusion* 37 (2): 135-140.
86. Borgna-Pignatti C, Cohen A (1997). Evaluation of a new method of administration of the iron chelating agent deferioxamine, *J of Pediatric*, 1997; 130: 86-88.
87. Porter JB, Jaswon MS (1989). Desferrioxamine ototoxicity-evaluation of risk factors in thalassemia patients and guideline for safe dosage. *British Journal of Haematology* 73: 403-409.
88. Bittenham GM, Griffith PM (1994). Efficacy of deferioxamine in preventing complications of iron overload in patient with thalassemia major. *New England Journal of Medicine*, 331 (9): 567-573.
89. De Montalembert M, Girot R, Revillion Y et al (1990). Partial Splenectomy in homozygous β -thalassemia. *Archives of Diseases in Childhood* 65: 304-307.
90. Thomas ED, Buckner CD (1982). Marrow transplantation for thalassemia *Lancet* 2: 8292.
91. Luracelli G (1997), Proceedings of the 3rd International Symposium on Bone Marrow Transplantation in Thalassemia, Pesero 26-29 Sept 1996.

92. Lucarelli G, Isgro A , Sodani P and Gaziev J (2012). Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Thalassemia and Sickle Cell Anemia. Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2:a011825.
93. Hongeng S, Pakakasama S, Chuansumrit A, et al (2016). Outcomes of Transplantation with Related- and Unrelated-Donor Stem Cells in Children with Severe Thalassemia. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 12 683- 687.
94. Bệnh viện nhi trung ương(2014). Nghiên cứu ứng dụng tế bào gốc trong điều trị một số bệnh trẻ em. Báo cáo tổng kết đề tài độc lập cấp nhà nước - chủ nhiệm đề tài: Khu Thị Khánh Dung.
95. Olivieri NF (1996) : Reactivation of fetal hemoglobin in patients with β -thalassemia. *Seminar in Hematology* 1996, 33(1): 24-42.
96. John O, Michael A, Androulla E, et al (2007). Prevention of thalassemias and other Hemoglobin Disorders. 2nd edition. Thalassemia International Federation Publications.
97. Angastiniotis M, Kyriakidon S, Hadjimimas M (1986). How Thalassemia was controlled in Cyprus. *World Health Forum* 1986, 7: 290-297.
98. Eleftherion A (2005). Health Education. In : Thalassemia International Federation Publications (3). Prevention of Thalassemia's and other Hemoglobin Disorder: 24 -33.
99. WHO (1993). Report of a join WHO/TIF Meeting on the Prevention and Control of Haemoglobinopathies, Nicosia, Cyprus, April 1993 (WHO/HDP/TIF/WG 93:1).
100. Weatherall DJ, Clegg JB (2001). The Thalassemia Syndromes. Blackwell Science: 105-109.
101. Galanello R (2005). Screening and Diagnosis for Hemoglobin Disorders. In: Thalassemia International Federation Publications 3: 34-40.
102. WHO (1994). Guidelines for the control of hemoglobin disorders 1994.

103. Petron M.(2005). Genetic Counselling. In: Thalassemia Internationa Federation Publications, V1: 61-65.
104. McDonagh KT, Nienhius AW (1993). Prenatal Diagnosis of Thalassemia. In: Nathar DG, Oski FA (editors) – Hematology of Infancy and Childhood, 4th ed . Saunders Company: 854-856.
105. Old John (2005). Prenatal Diagnosis. In; Gabanaello R, Eleftheriou A, Traeger- Synodinos J., Old J., Petron M, Angastiniotis M. (editors)- Prevention of Thalassemia's and other Hemoglobin Disorder: TIF publication:92 -95.
106. Janiaux E, Pahal GS, Rodeck C (2000). What invasive procedure to use early pregnancy. Blaillere 's Best Practice and Research clinical Obstretics and Oncology, 14 : 651 - 662.
107. Ngô Diễm Ngọc, Lý 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 TƯ. Y học Việt Nam, tháng 9 số đặc biệt 2015 tr. 83-92.
108. Lý Thanh Hà, Ngô Diễm Ngọc, Ngô Thị Tuyết Nhung và Cs (2015). Áp dụng kỹ thuật sinh học phân tử trong chẩn đoán trước sinh B Thalassemia tại Bệnh viện nhi Trung ương 2008 – 2015. Y học Việt Nam; 134: 170-177.
109. Nguyễn Thị Thu Hà, Đặng Thị Vân Hồng, Bạch Quốc Khánh và cs (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 2014 - 2015. Y học Việt Nam ; 134: 107 – 114.
110. Trần Văn Khoa, Ngô Trường Giang, Nguyễn Đình Tảo và cs (2015). Chẩn đoán di truyền trước chuyển phôi bệnh β thalassemia bằng phương pháp Minisequencing. Y học Việt Nam; 134: 93 - 99.

111. Ngô Trường Giang, Trần Văn Khoa, Triệu Tiên Sang và cs (2016). Kết quả bước đầu ứng dụng quy trình chẩn đoán di truyền trước chuyển phôi B Thalassemia bằng kỹ thuật Minisequencing. Tạp chí y học Việt nam; 448 tr 94-100.
112. Suthat Fucharoen and Prance Winichagoon (2011). Haemoglobinopathies in Southeast Asia. Indian J. Med. Res., 134(4): 498-506.
113. Eleftheriou A (2003). About Thalassemia. Thalasswemia intermedia and other thalassemias. Thalassemia International Federation Publications (4):90-98.
114. Phadke SR and Agarwal S (2003). Phenotype score to Grade the Severity of Thalassemia Intermedia. India Journal of Pediatrics, 70: 477-481.
115. Nguyễn Công Khanh (1985). Một số đặc điểm lâm sàng và huyết học β -thalassemia ở người Việt Nam. Luận án Tiến sĩ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
116. Bùi Văn Viên (1999). Một số đặc điểm lâm sàng, huyết học bệnh hemoglobin E và tần suất người mang gen HbE ở dân tộc Mường Hòa Bình. Luận án tiến sĩ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
117. Nguyễn Công Khanh, Dương Bá Trục (1983). Bệnh hemoglobin E. Y học thực hành, số 1 : 28 – 32.
118. Nguyễn Công Khanh, Dương Bá Trục, Lý Tuyết Minh, Lương Công Sỹ (1987). Sự lưu hành bệnh huyết sắc tố ở một số người dân tộc miền Bắc Việt Nam. Y học thực hành số 4 : 9 -15.
119. Nguyễn Đắc Lai, Lê thị Sửu, Thái Quý, Bạch Quốc Tuyên (1985). Bước đầu tìm hiểu sự lưu hành bệnh huyết sắc tố ở một số dân tộc ít người ở miền Bắc và miền Trung Việt Nam. Y học Việt Nam, số 4 :16 -24.
120. Nguyễn Công Khanh, Lê Thị Thư, Tạ Thu Hòa (1985). Nguyên nhân thiếu máu tan máu ở trẻ em. Y học Việt Nam. 4 : 32 -36.

121. Bùi Ngọc Lan (1995). Bước đầu nghiên cứu sự phát triển thể chất bệnh nhân β -thalassemia thể nặng và thể phối hợp β -thalassemia /HbE. Luận văn Thạc sĩ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
122. Bashir NAF, Halder AL., Shareef LAI (1993). Corisol levels in children with hemoglobinopathies in North Jordal. *J. of Trop. Pediatrics*, 39 : 30 – 31.
123. El – Hazmi MAF, Warsy AS, Fawaz LM (1994). Iron–endocrine pattern in patients with β – thalassemia. *J. Trop. Pediatrics*, 40 : 219 – 224.
124. Harder AF., Bashir N, Hassan Z, and Khatib S (1993). Thyroid function in children with β –thalassemia major in North Jordan. *J. of Trop. Pediatrics*, 39 : 107 -110.
125. Le Minh Triet (2013). Hemoglobinopathies in mountainous region of Thua Thien Hue, Vietnam, Ph. D. thesis in Biochemistry and Molecular Biology, University of Sassari.
126. Suthat Fucharoen and Panee Winichagoon (1992). Thalassemia in Southeast Asia : Problems and Strategy of prevention and Control. *Southeast Asean J. Trop. Med. Public Health*; 23, 4 : 647 -655.
127. Penelope IM, Tracey JH, Robert Linderman et al (1993). Molecular Characterization of Vietnamese HPFH. *Human Mutation*, 2 : 179 -184.
128. Peng CT, Liu SC., Chion SS, Kuo PL>, Shih MC, Chang JY, Chang JG (2003). Molecular Characterization of deletion forms of β -thalassemia in Taiwan. *Ann. Hematology*, 82 : 33 – 36.
129. Swee Lay Thein (2017). Molecular basis of β -thalassemia and potential therapy targets. *Blood Cells, Molecules and Diseases*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bound> 2017.06.001:1-12.
130. Chen W, Zhang X, Shang X, et al (2010). The molecular basis of β -thalassemia intermedia in Southern China : genotypic heterogenicity and phenotypic diversity. *BMC. Medical Genetics* : 11 – 13.

131. Tan E, George KL, Tan T, Chow PC, Hassan P, Chia R, Subramaniam R., Chandran R., Yap SE. (2004). Molecular defects in the β -globin gene identified in different ethnic groups / population during prenatal diagnosis for β -thalassemia. A Malaysian experiences. Clin. Exp. Med. 4 : 142 – 147.
132. Park SS, Cho HI (2002). β -thalassemia in the Korean Population. International J. of Hematology, Supplement 11 : 96 – 98.
133. Wearherall DJ. (1998). Thalassemia in the next millennium. In : Alaw R. Cohen (editor), Cooley's anemia of the New York Academy of Sciences, V.850 : 1 – 9.
134. Phạm Thị Ngọc Nga, Nguyễn Minh Tuấn, Nguyễn Trung Kiên (2018). Các kiểu đột biến gen gây β -thalassemia trên bệnh nhân đang điều trị tại Bệnh viện Nhi Đồng 1 năm 2016. Y học Việt Nam, 467: 427 – 434.
135. Bạch Thị Như Quỳnh, Lê Hồng Minh Thu, Nguyễn Thị Hồng và cs (2018). Nghiên cứu đặc điểm gen đột biến trên bệnh nhân thalassemia tại Hải Phòng và báo cáo trường hợp bệnh nhân nghi ngờ mang đột biến hiếm. Y học Việt Nam, 467 : 417 – 436.
136. Galanella R, Perseau L, Satta S, Dematis FR, Campus S (2011). Phenotype – Genotype correlation in β -thalassemia. Thalassemia Reports, 1 : 16 – 20.
137. Asadov C, Abdulalimov E, Mammadova T, Gafarova S, Guliyeva Y, Aliyeva G. (2017). Genotype – Phenotype correlation of β -thalassemia Mutations in an Azerbaijani Population. Turk. J. Haematology, 34 (3) : 258 – 263.
138. Thein SL (2013). The molecular basis of β -thalassemia. Cold Spring Harbor Perspective Medicine, 3 : 1 – 231. .
139. Murru S, Pishedda MC, Cao A, et al (1993). A promoter mutation of the β – globin gene (-101 C- T) has age – related expression pattern. Blood, 81 : 2818 – 2819.

140. Cao A, Galanello R, Rosatelli MC (1994). Genotype – Phenotype correlation in β -thalassemia. *Blood Rev*, 8 : 1 -12.
141. Galanello R, Dessi R, Melis MA, et al (1989). Molecular analysis of β -thalassemia intermedia in Sardinia. *Blood*, 74 : 823 -827.
142. Pirastu M, Kan YW, Galanello R, Cao A (1984). Multiple mutations produced delta – β zero – thalassemia in Sardinia. *Sciences*, 293 : 929 – 930.
143. Quirolo K, Vichinsky E (2004). Hemoglobin disorders. In : Behrman RE., Kliegman RM., Jenson HB. (eds). *Nelson Textbook of Pediatrics*, 17th edi., Saunders : 1623 - 1634.

PHỤ LỤC

PHIẾU THU THẬP SỐ LIỆU BỆNH NHÂN THALASSEMIA

BỆNH ÁN MẪU

Ngày lập phiếu:/...../.....

Mã bệnh án:

Ngày vào viện: /...../.....

THÔNG TIN CHUNG

* Họ và tên:

* Giới tính: Nam [], Nữ []

* Ngày tháng năm sinh:

Tuổi: 0- 12 tháng []; 2t []; 2-5t [], 5-10t [], 11- 15t []; >15t []

* Dân tộc: Kinh []; Ít người []; Dân tộc nào:

* Địa chỉ: Xã: Huyện: Tỉnh:

* Điện thoại liên lạc:

* Họ và tên bố: Tuổi: Nghề nghiệp:

Dân tộc:

* Họ và tên mẹ: Tuổi: Nghề nghiệp:

Dân tộc:

* Số anh, chị, em ruột: . Con thứ mấy [], số bị bệnh []

LÂM SÀNG

* Lý do vào viện:

* Tuổi phát hiện biểu hiện bệnh: , < 1t [], 1-5t []; 5- 10t [], 11-15t []

* Biểu hiện bệnh đầu tiên:

* Thiếu máu trên lâm sàng: Có []; Không rõ []

* Vàng da: Có []; Không rõ []

Bilirubin máu: TP TT GT

* Lách to: Có [],cm ; Không rõ [],

1-3cm []; 3-5cm []; 5-10cm [], >10cm []

* Gan to: Có []; Không rõ [],cm; 1-3cm []; 3-5cm [], >5cm []

- * Biến dạng xương: Có []; Không rõ []
 Bộ mặt Thalassemia: Rõ []; Vừa phải []; Không []
- * Da, niêm mạc:
 - Da xạm: Rõ []; Không rõ []
 - Niêm mạc lợi: Xám xỉn []; Hồng []; Nhợt nhạt []
 - Xuất huyết da: Có []; Không []
- * Chiều cao: cm
 So với chuẩn: Bình thường []; Giảm -1SD []; Giảm -2SD []
- * Cân nặng: kg
 So với chuẩn: Bình thường []; Giảm -1SD []; Giảm -2SD []
- * Tuổi bắt đầu phải truyền máu: ; Không phải truyền máu []
 Trước 1t []; 1-3t []; 3-5t []; >5t []
- * Số lần truyền máu/ năm:
 1-2 lần []; 3-5 lần []; >5 lần []

CÂN LÂM SÀNG

- * SLHC (T/ l):
- * Hb (g/ l): β -Thal: nặng Hb 6-7g []; trung gian Hb 8-10g []
 Thiếu máu nhẹ: 9-12g/l []; vừa 6-9g/l []; nặng < 6g/l []
- * Hct (%) :
- * MCV (fl):
- * MCH (pg):
- * MCHC (%):
- * Hc lưới (%):
- * HC non máu: Có []; Không []
- * RDW hồng cầu:
- * Số lượng BC (G/ l): TT: L: M:
- * Tiểu cầu (G/ l):
- * Thành phần Hb

	HbA ₁ (%)	HbA ₂ (%)	HbF (%)	HbE (%)	Hb khác (%)
Của bệnh nhân					

* Sinh hóa: Ferritin:

Fe huyết thanh:

GOT:

GPT:

Ure:

Creatinin:

* XN khác:

* XN di truyền phân tử:

Bệnh nhân:

Bố:

Mẹ:

* Đột biến gen - thal:

CD 41/ 42 []; CD 17 []; CD 71/ 72 []; CD26 []

IVS 1- 1 []; IVS 1- 1 []; IVS 2- 654 []

-28 []

Khác

CHẨN ĐOÁN, PHÂN LOẠI

* Chẩn đoán: β - thalassemia []

β - thalassemia/ HbE []

Mang gen β - thalassemia []

Mang gen HbE []

Mang gen Hb khác []

* Phân loại thể di truyền:

Đồng hợp tử $\beta^0\beta^0$ [] Dị hợp tử $\beta^0\beta^A$ []

$\beta^+\beta^+$ [] $\beta^+\beta^A$ []

$\beta^0\beta^+$ []

Dị hợp tử kép $\beta^0\beta^E$ []

$\beta^+\beta^E$ []

* Phân loại theo mức độ: Nặng []; Trung gian []; Nhẹ []

* Phân nhóm thể trung gian: Nhóm I []; Nhóm II []; Nhóm III []

CÁC ĐỘT BIẾN GEN β - GLOBIN

Theo: Liên đoàn Thalassaemia quốc tế [98]

Đột biến	Kiểu gen	Vùng dịch tễ
I. Đột biến phiên mã		
<i>Yếu tố điều hòa promoter</i>		
1) -101(C→T)	β^{++} (ảnh)	Người Địa Trung Hải
2) -101(C→G)	β^{++} (ảnh)	Người Do Thái
3) -92(C→T)	β^{++} (ảnh)	Người Địa Trung Hải
4) -90(C→T)	β^+	Người Bồ Đào Nha
5) -88(C→T)	β^{++}	Người Mỹ da đen, Ấn Độ
6) -88(C→A)	β^+	Người Kurds
7) -87 (C→G)	β^{++}	Người Địa Trung Hải
8) -87 (C→T)	β^{++}	Người Đức, Ý
9) -87(C→A)	β^{++}	Người Mỹ da đen
10) -86(C→G)	β^+	Người Thái Lan, Li băng
11) -86(C→A)	β^{++}	Người Ý
12) -73(A→T)	β^{++}	Người Trung Quốc
13) -32(C→A)	β^+	Người Đài Loan
14) -32(C→T)	β^+	Người Hispanic
15) -31(A→G)	β^+	Người Nhật Bản
16) -31(A→C)	β^+	Người Ý
17) -30(T→A)	β^+	Người Địa Trung Hải, Bulgari

18) -30(T→C)	β^+	Người Trung Quốc
19) -29(A→G)	β^+	Người Mỹ da đen, Trung Quốc
20) -29(A→C)	β^+	Người Jordani
21) -29(G→A)	β^+	Người Thổ Nhĩ Kỳ
22) -28(A→C)	β^+	Người Kurds
23) -28(A→G)	β^+	Người da đen, Đông Nam Á
24) -27(A→T)	β^+	Người Corsica
25) -27 to 26 (-AA)	β^+	Người Mỹ gốc Phi
26) -25(G→C)	β^+	Người Mỹ gốc Phi
Đột biến ở vị trí 5'UTG		
27) CAP + 1(A→C)	β^{++} (ấn)	Người Ấn Độ Châu Á
28) CAP + 8(C→T)	β^{++} (ấn)	Người Trung Quốc
29) CAP + 10(-T)	β^{++} (ấn)	Người Hy Lạp
30) CAP + 20(C→T) ^a	?	Người Bulgari
31) CAP + 22 (G→A)	β^{++}	Người Địa Trung Hải, Bulgari
32) CAP + 33(C→G)	β^{++} (ấn)	Người Sip gốc Hy Lạp
33) CAP + 40 to + 43(-AAAC)	β^{++}	Người Trung Quốc
34) CAP + 45 (G→C)	β^+	Người Ý
II. Quá trình biến đổi RNA		
<i>Điểm kết nối</i>		
1) IVS1-(-2) CD30 (AGG→GGG)	β^0	Người Do Thái
2) IVS1-(-2) CD30 (AGG→CGG)	β^0	Người Canada gốc Ý

3) IVS1-(-1) CD30 (AGG→ACG) (Arg → Thr)	β^0	Người Địa Trung Hải, Người Mỹ da đen, Bắc Phi, Kurds, Tiểu vương quốc Ả rập
4)IVS1-(-1) CD30 (AGG→AAG)	β^0	Người Bulgaria, Tiểu vương quốc Ả rập
5) IVS1-1 (G→ A)	β^0	Người Địa Trung Hải
6) IVS1-1 (G→ T)	β^0	Người Ấn Độ Châu Á, Đông Nam Á, Trung Quốc
7) IVS1-1 (G→ C)	β^0	Người Ý, Canada, Nhật Bản
8) IVS1-2 (T→ G)	β^0	Người Tunisia
9) IVS1-2 (T→ C)	β^0	Người Mỹ da đen
10) IVS1-2 (T→ A)	β^0	Người Algeria, Ý
11) IVS2-1 (G→ A)	β^0	Người Địa Trung Hải, Người Mỹ da đen
12) IVS2-1 (G→ C)	β^0	Người Iran
13) IVS2-2 (T→ A)	? β^0	Người Thổ Nhĩ Kỳ
14) IVS2-2 (-T)	β^0	Người Trung Quốc
15) IVS1-3' del 17 bp	β^0	Người Kuwait
16) IVS1-3' end del 25 bp	β^0	Người Ấn Độ Châu Á, Tiểu vương quốc Ả rập
17) IVS1-3' end del 44 bp	β^0	Người Địa Trung Hải
18) IVS1-3' end duplication 22 bp	β^0	Người Thái Lan
19) IVS1 - 130 (G→ C)	β^0	Người Ý, Nhật Bản, Tiểu vương quốc Ả rập

20) IVS1 - 130 (G→ A)	β^0	Người Ai Cập
21) IVS1 - 130 (+1)CD30 (AGG→ AGC) (Arg→Ser)	β^0	Người Trung Đông
22) IVS2 -849 (A→ G)	β^0	Người Người Mỹ da đen
23) IVS2 - 849 (A→ C)	β^0	Người Mỹ da đen
24) IVS2 - 850 (G→ C)	β^0	Người Nam Tư
25) IVS2 - 850 (G→ A)	β^0	Người Bắc Âu
26) IVS2 - 850 (G→ T)	β^0	Người Nhật Bản
27) IVS2 - 850 (- G)	β^0	Người Ý
<i>Vị trí nối đồng nhất</i>		
28) IVS1 - 5 (G→ C)	β^0	Người Ấn Độ châu Á, Đông Nam Á, Melanesi
29) IVS1 - 5 (G→ T)	β^+	Người Địa Trung Hải, Bắc Âu
30) IVS1 - 5 (G→ A) ^b	β^+	Người Địa Trung Hải, Algeria
31) IVS1 - 6 (T→ C)	β^{++}	Người Địa Trung Hải
32) IVS1 - (-3) CD29 (GGC→ GGT)	β^+	Người Li Băng
33) IVS1 - 128 (T→ G)	β^+	Người Ả rập Saudi
34) IVS1 - 129 (A→ G)		Người Đức
35) IVS2 - 5 (G→ C)	β^+	Người Trung Quốc
36) IVS2 - 843 (T→ G)	β^+	Người Algeria
37) IVS2 - 844 (C→ G)	β^{++} (ẩn)	Người Ý
38) IVS2 - 844 (C→ A)	β^{++} (ẩn)	Người Ghana
39) IVS2 - 848 (C→ A)	β^+	Người Mỹ da đen, Ai Cập, Iran

40) IVS2 - 848 (C→ G)	β^+	Người Nhật Bản
<i>Vị trí nối ẩn trên introns</i>		
41) IVS1 - 110 (G→ A)	β^+	Người Địa Trung Hải
42) IVS1 - 116 (T→ G)	β^0	Người Địa Trung Hải
43) IVS2 - 654 (C→ T)	β^0 / β^+	Người Trung Quốc, Đông Nam Á, Nhật Bản
44) IVS2 - 705 (T→ G)	β^+	Người Địa Trung Hải
45) IVS2 - 745 (C→ G)	β^+	Người Địa Trung Hải
46) IVS2 - 837 (T→ G)	?	Người Ấn Độ châu Á
<i>Vị trí nối ẩn trên exons</i>		
47) CD10 (GCC→ GCA)		Người Ấn Độ châu Á
48) CD19 (AAC→ AGC) Hb Malay (Asn → Ser)	β^{++}	Người Đông Nam Á
49) CD24 (GGT→ GGA)	β^{++}	Người Người Mỹ da đen, Nhật Bản
50) CD26 (GAG→ AAG) (Glu → Lys, HbE)	β^+	Người Đông Nam Á, Châu Âu
51) CD26 (GAG→ GCG) (Glu → Ala, Hb Tripoli)	β^+	Người Libia
52) CD27 (GCC→ TCC) (Ala → Ser, Knossos) ^c	β^+	Người Địa Trung Hải
<i>Phân tách RNA – Tín hiệu poly A</i>		
53) AATAAA → AACAAA	β^{++}	Người Mỹ da đen
54) AATAAA → AATGAA	β^{++}	Người Địa Trung Hải

55) AATAAA → AATAGA	β^{++}	Người Malaysia
56) AATAAA → AATAAG	β^{++}	Người Kurd
57) AATAAA → AA - AA	β^{+}	Người Pháp, Người Mỹ da đen
58) AATAAA → A-	β^{+}	Người Kurd, Tiều vương quốc Ả Rập
59) AATAAA → AAAAAA	β^{+}	Người Tunisia
60) AATAAA → CATAAA	β^{++} (ấn)	Người Trung Quốc
61) AATAAA → GATAAA	β^{+}	Người Séc, Địa Trung Hải, Nam Tư, Canada
62) AATAAA → -	β^{+}	Người Nigeria
<i>Đột biến ở vị trí 3' UTR</i>		
63) Term CD+6, C → G	β^{++} (ấn)	Người Hy Lạp
64) Term CD+90, del 13 bp	β^{++} (ấn)	Người Thổ Nhĩ Kỳ, Nam Tư
65) Term CD+47, C → G	β^{++}	Người Armenia
III. Quá trình dịch mã RNA		
<i>Đột biến mã mở đầu</i>		
1) ATG → GTG	β^0	Người Nhật Bản
2) ATG → CTG	β^0	Người Bắc Ireland
3) ATG → ACG	β^0	Người Nam Tư
4) ATG → AGG	β^0	Người Trung Quốc
5) ATG → AAG	β^0	Người Bắc Âu
6) ATG → ATC	β^0	Người Nhật Bản
7) ATG → ATA	β^0	Người Ý, Thụy Điển
8) ATG → ATT	β^0	Người Iran

9) 45 bp insertion (-22 to +23)	?	Người Maori, Polynesia
<i>Đột biến vô nghĩa</i>		
1) CD6 GAG → TAG	β^0	Người Brazil
2) CD7 GAG → TAG	β^0	Người Anh
3) CD15 TGG → TAG	β^0	Người Ấn Độ châu Á, Nhật Bản
4) CD15 TGG → TGA	β^0	Người Bồ Đào Nha, Nhật Bản
5) CD17 AAG → TAG	β^0	Người Trung Quốc, Nhật Bản
6) CD22 GAA → TAA	β^0	Người Đảo Reunion
7) CD26 GAG → TAG	β^0	Người Thái Lan
8) CD35 TAC → TAA	β^0	Người Thái Lan
9) CD37 TGG → TGA	β^0	Người Ả Rập Saudi
10) CD39 CAG → TAG	β^0	Người Địa Trung Hải
11) CD43 GAG → TAG	β^0	Người Trung Quốc, Thái Lan
12) CD59 AAG → TAG	β^0	Người Mỹ Ý
13) CD61 AAG → TAG	β^0	Người da đen
14) CD90 GAG → TAG	β^0	Người Nhật Bản
15) CD112 TGT → TGA	β^0	Người Slovenia
16) CD121 GAA → TAA	β^0	Người Người Séc
<i>Đột biến dịch khung</i>		
1) CD1-G	β^0	Người Địa Trung Hải
2) CD2/3/4 (-9 bp, +31 bp)	β^0	Người Algeria
3) CD2 – 4, 5-9, 7, 10	β^0	Người Algeria
4) CD5 – CT	β^0	Người Địa Trung Hải

5) CD6 – A	β^0	Người Địa Trung Hải, Người Mỹ da đen
6) CD8 – AA	β^0	Người Địa Trung Hải
7) CD8/9+G	β^0	Người Ấn Độ, Đông Nam Á, Nhật Bản
8) CD9 +TA	β^0	Người Tunisia
9) CD9/10 +T	β^0	Người Hy Lạp, Ả Rập
10) CD11 – T	β^0	Người Mê hi cô
11) CD14/15+G	β^0	Người Trung Quốc
12) CD15 – T	β^0	Người Malaysia
13) CD15/16-G	β^0	Người Đức
14) CD15/16+G	β^0	Người Trung Quốc
15) CD16 – C	β^0	Người Ấn Độ châu Á
16) CD22/23/24 – 7 bp (AAGTTGG)	β^0	Người Thổ Nhĩ Kỳ
17) CD24 – G; +CAC	β^0	Người Ai Cập
18) CD24/25 - GGT	?	Không có thông tin
19) CD25/26 + T	β^0	Người Tunisia
20) CD26 + T	β^0	Người Nhật Bản
21) CD27/28+C	β^0	Người Trung Quốc, Thái Lan
22) CD28 – C	β^0	Người Ai Cập
23) CD28/29 – G	β^0	Người Nhật Bản, Ai Cập
24) CD31 – C	β^0	Người Trung Quốc
25) CD35 – C	β^0	Người Malaysia

26) CD36/37 – T	β^0	Người Kurd, Iran
27) CD37/38/39 del 7 bp (-GACCCAG)	β^0	Người Thổ Nhĩ Kỳ
28) CD38/39 – C	β^0	Người Séc
29) CD38/39 – CC	β^0	Người Bỉ
30) CD40 – G	β^0	Người Nhật Bản
31) CD40/41 +T	β^0	Người Trung Quốc
32) CD41 – C	β^0	Người Thái Lan
33) CD41/42 – TTCT	β^0	Người Trung Quốc, Đông Nam Á, Ấn Độ
34) CD42/43 +T	β^0	Người Nhật Bản
35) CD42/43 +G	β^0	Người Nhật Bản
36) CD44 – C	β^0	Người Kurd
37) CD45 – T	β^0	Người Pakistan
38) CD45 + T	β^0	Người Thổ Nhĩ Kỳ
39) CD47 + A	β^0	Người Suriname
40) CD47/48 + ATCT	β^0	Người Người Ấn Độ châu Á
41) CD49 – C	β^0	Người Jordani
42) CD51 – C	β^0	Người Hungary
43) CD53/54 +G	β^0	Người Nhật Bản
44) CD54 – T	β^0	Người Thụy Điển
45) CD54/58 (-T ATG GGC AAC CCT)	β^0	Người Trung Quốc
46) CD55 – A	β^0	Người Ấn Độ châu Á

47) CD54/55 + A	β^0	Người Ấn Độ châu Á
48) CD56 – 60 + 14 bp	β^0	Người Iran
49) CD57/58 +C	β^0	Người Ấn Độ châu Á
50) CD59 – A	β^0	Người Ý
51) CD62/63/64 del 7 bp (-TCATGGC)	β^0	Người Ấn Độ châu Á
52) CD64 – G	β^0	Người Thụy Sĩ
53) CD67 – TG	β^0	Người Philipin
54) CD71/72 + T	β^0	Người Trung Quốc
55) CD71/72 + A	β^0	Người Trung Quốc
56) CD72/73 – AGTGA, +T	β^0	Người Anh
57) CD74/75 – C	β^0	Người Thổ Nhĩ Kỳ
58) CD76 GCT →-T	β^0	Người Bắc Phi
59) CD76 – C	β^0	Người Ý
60) CD82/83 – G	β^0	Người Séc, Azerbaijani
61) CD81 – 87 (-22 bp)	β^0	Người Ấn Độ châu Á
62) CD83- 86 del 8 bp (-CACCTTTG)	β^0	Người Nhật Bản
63) CD84/85 +C	β^0	Người Nhật Bản
64) CD84/85/86 +T	β^0	Người Nhật Bản
65) CD88 +T	β^0	Người Ấn Độ châu Á
66) CD88 – TG	β^0	Người Pháp
67) CD89/90 – GT	β^0	Người Nhật Bản

68) CD95 +A	β^0	Người Đông Nam Á
69) CD106/107 +G	β^0	Người Người Mỹ da đen, Ai Cập
70) CD109 (GTG \rightarrow GT-)	?	Người Ireland
71) CD120/121 + A ^d	β^0	Người Philipin
72) CD130/131 +GCCT	$?\beta^0$	Người Đức
73) CD142/143 (-CC)	?	Người Pháp