

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



ĐẶNG THỊ HỒNG THIÊN

**NGHIÊN CỨU
SÀNG LỌC BỆNH THALASSEMIA
Ở PHỤ NỮ CÓ THAI
ĐẾN KHÁM VÀ ĐIỀU TRỊ TẠI
BỆNH VIỆN PHỤ SẢN TRUNG ƯƠNG**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - 2019

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



ĐẶNG THỊ HỒNG THIỆN

**NGHIÊN CỨU
SÀNG LỌC BỆNH THALASSEMIA
Ở PHỤ NỮ CÓ THAI
ĐẾN KHÁM VÀ ĐIỀU TRỊ TẠI
BỆNH VIỆN PHỤ SẢN TRUNG ƯƠNG**

Chuyên ngành: Sản phụ khoa

Mã số: 62720131

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS. Lê Hoài Chương

HÀ NỘI - 2019

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Đặng Thị Hồng Thiện, nghiên cứu sinh khóa 33 -Trường Đại học Y Hà Nội, chuyên ngành Sản phụ khoa, xin cam đoan:

1. Đây là luận án do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của Thầy Lê Hoài Chương.
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 25 tháng 11 năm 2019

Người viết cam đoan

Đặng Thị Hồng Thiện

LỜI CẢM ƠN

Sau một quá trình dài học tập, làm việc và nghiên cứu, hôm nay, với kết quả luận án này, một kết quả có được không chỉ từ riêng cá nhân mình, tôi xin trân trọng cảm ơn tất cả.

Lời đầu tiên, xin trân trọng cảm ơn những người phụ nữ với sứ mệnh cao cả là mang thai và sinh con, sinh cho gia đình và xã hội những thành viên khỏe mạnh, nhưng nhiều người, nhiều gia đình còn phải đối mặt với những căn bệnh ngặt nghèo. HỌ, đã hun đúc trong tôi một tâm huyết chăm sóc cho những thai kỳ mẹ khỏe, con khỏe, giảm những gánh nặng bệnh tật có thể dự phòng được, để tôi có thể mang tâm huyết này vào đời.

Xin trân trọng cảm ơn **PGs.Ts. Lê Anh Tuấn**- nguyên phó Giám đốc Bệnh viện Phụ Sản Trung Ương, nguyên Giám đốc Trung Tâm Chẩn đoán Trước sinh- Bệnh viện Phụ Sản Trung Ương, người THẦY đã khơi dậy ý tưởng cho em đi theo để nghiên cứu, để tìm tòi một con đường nhằm chẩn đoán sớm bệnh thalassemia từ trong bào thai.

Xin trân trọng cảm ơn người THẦY khoa học, PGS.Ts. Lê Hoài Chương, đã dìu dắt và động viên em không ngừng trên suốt chặng đường lâu dài này, để có được sản phẩm khoa học ngày hôm nay.

Xin trân trọng cảm ơn các quý THẦY CÔ, các quý vị LÃNH ĐẠO, các quý ĐỒNG NGHIỆP tại Bệnh Viện Phụ Sản Trung Ương nơi tôi đang công tác, đặc biệt là Trung Tâm Chẩn đoán Trước sinh, Khoa Khám bệnh, Khoa Khám bệnh theo yêu cầu, phòng Nghiên cứu Khoa học, phòng Kế hoạch Tổng hợp, phòng Công nghệ Thông tin.

Xin trân trọng cảm ơn các quý THẦY CÔ tại Trường Đại Học Y Hà Nội nơi em đang học tập, đặc biệt là khoa Sau Đại học đã giúp đỡ em hoàn thành nhiệm vụ vinh quang này.

Xin trân trọng cảm ơn những người BẠN yêu quý đã luôn ở bên tôi.

Cuối cùng, xin được cảm ơn GIA ĐÌNH, ông bà, bố mẹ, chồng và hai con gái của tôi, những người mà tất cả những gì họ dành cho tôi đều là tình yêu thương vô bờ.

Đặng Thị Hồng Thiện

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT

Viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
BV PSTU		Bệnh Viện Phụ Sản Trung Ương
DBG		Đột biến gen
Hb	Hemoglobin	Huyết sắc tố
HBA		Gen quy định tổng hợp chuỗi alpha globin
HBB		Gen quy định tổng hợp chuỗi beta globin
HGB(g/dL)	Hemoglobin	Nồng độ huyết sắc tố
HbE	Hemoglobin E	Bệnh huyết sắc tố E
HbC	Hemoglobin C	Bệnh huyết sắc tố C
HbS	Hemoglobin S	Bệnh huyết sắc tố S
HT		Huyết thanh
MCV (fL)	Mean Corpuscular Volume	Thể tích trung bình hồng cầu
MCH (pg)	Mean Corpuscular Hemoglobin	Số lượng hemoglobin trung bình hồng cầu
PGD	Pre-implantation genetic diagnosis	Chẩn đoán di truyền trước chuyển phôi
PLT	Platelet	Tiểu cầu
RBC ($10^{12}/L$)	Red Blood Cells	Số lượng hồng cầu
TIF	Thalassemia International Fondation	Hiệp hội Thalassemia quốc tế
TPT		Tổng phân tích
TB		Tế bào
XN		Xét nghiệm
WBC	White blood cell	Số lượng bạch cầu
WHO	World Health Organization	Tổ chức y tế thế giới

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
Chương 1.....	3
TỔNG QUAN	3
1.1. Cơ chế bệnh sinh của bệnh thalassemia.....	3
1.1.1. Cấu tạo và chức năng của hồng cầu.....	3
1.1.2. Hemoglobin.....	4
1.1.3. Cơ chế bệnh sinh.....	6
1.1.3.1. Giảm sản xuất chuỗi globin.....	7
1.1.3.2. Thay đổi Hemoglobin.....	7
1.2. Bệnh alpha thalassemia.....	8
1.2.1. Khái niệm.....	8
1.2.2. Cơ sở phân tử.....	8
1.2.3. Quy luật di truyền.....	10
1.2.4. Triệu chứng và các thể bệnh lâm sàng.....	10
1.2.4.1. Alpha thalassemia thể ẩn.....	11
1.2.4.2. Alpha thalassemia thể nhẹ.....	11
1.2.4.3. Bệnh hemoglobin H (HbH)- thể trung gian.....	11
1.2.4.4. Bệnh phù thai hemoglobin Bart's- thể nặng.....	12
1.2.5. Sàng lọc và Chẩn đoán trước sinh bệnh α -thalassemia.....	14
1.3. Bệnh beta thalassemia.....	15
1.3.1. Khái niệm.....	16
1.3.2. Cơ sở phân tử.....	16
1.3.3. Quy luật di truyền.....	17
1.3.4. Triệu chứng và các thể bệnh lâm sàng.....	18
1.3.4.1. Bệnh beta thalassemia thể nhẹ.....	18
1.3.4.2. β thalassemia thể trung gian.....	19

1.3.4.3. Bệnh β thalassemia thể nặng hay thể đồng hợp tử (bệnh thiếu máu Cooley).....	19
1.3.4.4. HbE/ β -thalassemia.....	20
1.3.5. Chẩn đoán trước sinh bệnh β -thalassemia.....	21
1.4. Chẩn đoán.....	23
1.4.1. Chẩn đoán xác định.....	23
1.4.2. Chẩn đoán mức độ bệnh.....	24
1.5. Điều trị.....	25
1.5.1. Nguyên tắc điều trị.....	25
1.5.2. Truyền máu.....	25
1.5.3. Thải sắt.....	26
1.5.4. Cắt lách.....	27
1.5.5. Điều trị khác.....	27
1.5.5.1. Ghép tế bào gốc tạo máu.....	27
1.5.5.2. Liệu pháp gen.....	28
1.5.5.3. Thụ tinh trong ống nghiệm với những phôi không bị mang gen thalassemia nhờ chẩn đoán di truyền trước làm tổ (PGD: pre-implantation genetic diagnosis).....	29
1.5.5.4. Điều trị biến chứng và điều trị hỗ trợ.....	29
1.6. Ảnh hưởng của bệnh Thalassemia và quá trình mang thai.....	29
1.6.1. Ảnh hưởng của bệnh Thalassemia đối với thai nghén.....	30
1.6.2. Ảnh hưởng của thai nghén đối với bệnh thalassemia.....	30
1.7. Sàng lọc và chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia.....	31
1.7.1. Tại sao phải sàng lọc và chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia.....	32
1.7.2. Mục đích.....	32
1.7.3. Đối tượng sàng lọc và chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia.....	32
1.7.4. Siêu âm thai.....	33

1.7.5. Các phương pháp lấy bệnh phẩm của thai.....	33
1.7.5.1. Chọc ối.....	33
1.7.5.2. Sinh thiết gai rau.....	34
1.7.5.3. Lấy máu cuống rốn.....	34
1.7.6. Chẩn đoán di truyền trước làm tổ.....	35
1.7.7. Xét nghiệm di truyền học phân tử tìm đột biến gen thalassemia.....	35
1.7.7.1. Phương pháp lai AND.....	36
1.7.7.2. Phương pháp GAP-PCR.....	36
1.7.7.3. Phương pháp ARMS-PCR.....	36
1.7.7.4. Phương pháp Multiplex –PCR.....	37
1.7.7.5. Giải trình tự gen.....	37
1.8. Các nghiên cứu về thalassemia và thai nghén ở Việt Nam và Thế giới.....	37
Chương 2.....	41
ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	41
2.1. Thời gian và địa điểm nghiên cứu.....	41
2.2. Đối tượng nghiên cứu.....	41
2.2.1. Nhóm đối tượng cho mục tiêu 1: Mô tả một số chỉ số huyết học của các thai phụ tham gia sàng lọc bệnh thalassemia.	41
2.2.1.1. Tiêu chuẩn chọn lựa.....	41
2.2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ.....	41
2.2.2. Nhóm đối tượng cho mục tiêu 2: phân tích kết quả chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia.	41
2.2.2.1. Tiêu chuẩn chọn lựa.....	41
2.2.2.2. Tiêu chuẩn loại trừ.....	42
2.3. Phương pháp nghiên cứu.....	42
2.3.1. Thiết kế nghiên cứu.....	42
2.3.2. Cỡ mẫu nghiên cứu và cách chọn mẫu.....	42

2.3.2.1. Cỡ mẫu.....	42
2.3.2.2. Cách chọn mẫu.	43
2.3.3. Tiến trình nghiên cứu.....	43
2.3.3.1. Sơ đồ nghiên cứu.	43
2.3.3.2. Các bước tiến hành nghiên cứu.	44
2.3.3.3. Các xét nghiệm trong sơ đồ nghiên cứu.	46
2.3.3.4. Tư vấn di truyền.....	50
2.3.4. Các biến số và chỉ số nghiên cứu.....	51
2.3.5. Sai số và cách khắc phục sai số	55
2.3.6. Phương pháp thu thập và xử lý số liệu.	55
2.3.7. Đạo đức nghiên cứu.	56
Chương 3.....	57
KẾT QUẢ.....	57
3.1. Một số chỉ số huyết học của các thai phụ tham gia sàng lọc bệnh thalassemia tại bệnh viện Phụ Sản Trung Ương.	57
3.1.1. Tuổi của phụ nữ có thai được sàng lọc bệnh thalassemia.	57
3.1.2. Tuổi thai khi làm xét nghiệm sàng lọc.	58
3.1.3. Tỷ lệ sàng lọc dương tính.	58
3.1.4. Đặc điểm tế bào hồng cầu theo tuổi thai.	59
3.1.5. Tỷ lệ thiếu máu ($HGB < 110g/l$).....	60
3.1.6. Đặc điểm tế bào hồng cầu theo phân loại có thiếu máu.	60
3.1.7. Kết quả xét nghiệm thể tích trung bình hồng cầu (MCV).....	61
3.1.8. Tỷ lệ hồng cầu nhỏ ($MCV < 80fL$).....	62
3.1.9. Đặc điểm tế bào hồng cầu theo phân nhóm hồng cầu nhỏ.	62
3.1.10. Kết quả xét nghiệm huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCH).....	63
3.1.11. Tỷ lệ hồng cầu nhược sắc ($MCH < 28pg$).	64
3.1.12. Đặc điểm tế bào hồng cầu theo phân nhóm hồng cầu nhược sắc.....	64

3.2. Kết quả chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia.	65
3.2.1. Tuổi của thai phụ được chọc ối.....	65
3.2.2. Dân tộc.	66
3.2.3. Đặc điểm tế bào hồng cầu theo tuổi thai.	66
3.2.4. Đặc điểm tế bào hồng cầu theo phân loại thiếu máu.	67
3.2.5. Xét nghiệm đột biến gen của thai phụ.	68
3.2.6. Phân bố đột biến gen của thai phụ.	69
3.2.7. Kết quả đột biến gen của thai.	70
3.2.8. Phân bố đột biến gen của thai.	71
3.2.9. Phân loại thể lâm sàng của bệnh khi chọc ối.....	72
3.2.10. Liên quan giữa kết quả chọc ối của thai và xét nghiệm đột biến gen thalassemia của mẹ.....	73
3.2.11. Liên quan giữa kết quả HGB và đột biến gen của thai phụ.....	74
3.2.12. Liên quan giữa kết quả MCV và đột biến gen α -thalassemia.	75
3.2.13. Liên quan giữa kết quả MCH và đột biến gen α -thalassemia.	77
3.2.14. Liên quan giữa kết quả MCV và đột biến gen β -thalassemia.....	77
3.2.15. Liên quan giữa kết quả MCH và đột biến gen β -thalassemia.....	78
3.2.16. Kết quả xét nghiệm Sắt huyết thanh.	79
3.2.17. Kết quả xét nghiệm Ferritin huyết thanh.	79
3.2.18. Kết quả xét nghiệm điện di huyết sắc tố.....	80
3.2.19. Kết quả siêu âm thai.....	81
3.2.20. Liên quan giữa đột biến gen của thai và kết quả siêu âm thai.....	81
3.2.21. Tiền sử sản khoa.	82
3.2.22. Liên quan giữa kết quả đột biến gen của thai phụ và tiền sử phù thai.....	82
3.2.23. Liên quan giữa kết quả đột biến gen của thai và tiền sử phù thai.	83
Chương 4.....	84

BÀN LUẬN	84
4.1. Bàn luận về một số chỉ số huyết học của các thai phụ tham gia sàng lọc bệnh thalassemia tại Bệnh viện Phụ Sản Trung Ương.....	84
4.1.1. Về tuổi của người phụ nữ khi có thai:	84
4.1.2. Về tuổi thai được làm xét nghiệm sàng lọc bệnh thalassemia:	84
4.1.3. Tỷ lệ sàng lọc bệnh thalassemia có kết quả dương tính:	86
4.1.4. Về đặc điểm của tế bào hồng cầu ở phụ nữ có thai:	87
4.2. Phân tích kết quả chẩn đoán trước sinh thai mang gen bệnh thalassemia. ...	93
4.2.1. Đặc điểm tế bào hồng cầu của các thai phụ mang đột biến gen.....	94
4.2.2. Kết quả xét nghiệm đột biến gen của mẹ.....	94
4.2.3. Phân bố đột biến gen của thai phụ.	96
4.2.4. Kết quả đột biến gen của thai.	97
4.2.5. Xét nghiệm sắt huyết thanh và ferritin huyết thanh.....	102
4.2.6. Xét nghiệm điện di huyết sắc tố.	103
4.2.7. Kết quả siêu âm thai và tiền sử phù thai.....	106
4.3. Bàn luận về quy trình sàng lọc và chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia ở phụ nữ có thai.....	108
4.3.1. Bàn luận về quy trình sàng lọc và chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia qua nghiên cứu này.	108
4.3.2. Đề xuất quy trình sàng lọc và chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia	117
KẾT LUẬN	122
1. Một số chỉ số huyết học của các thai phụ tham gia sàng lọc bệnh thalassemia tại Bệnh viện Phụ Sản Trung Ương.	122
2. Kết quả chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia.	123
KIẾN NGHỊ.....	124
TÀI LIỆU THAM KHẢO	

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1: Các loại allele đột biến của bệnh α -thalassemia:	9
Bảng 1.2: Các đột biến gây bệnh β -thalassemia thường gặp	17
Bảng 2.1: Thành phần hemoglobin ở người bình thường	47
Bảng 2.2: Hai mươi một đột biến α -thalassemia	48
Bảng 2.3: Hai mươi hai đột biến β -thalassemia	49
Bảng 3.1: Phân bố tuổi của đối tượng nghiên cứu	57
Bảng 3.2: Phân bố tuổi thai khi xét nghiệm sàng lọc	58
Bảng 3.3: Đặc điểm tế bào hồng cầu theo tuổi thai	59
Bảng 3.4: Đặc điểm tế bào hồng cầu theo phân loại thiếu máu	60
Bảng 3.5: Đặc điểm tế bào hồng cầu theo phân loại hồng cầu nhỏ	62
Bảng 3.6: Đặc điểm tế bào hồng cầu theo phân loại hồng cầu nhược sắc	64
Bảng 3.7: Phân bố tuổi của thai phụ được chọn ới	65
Bảng 3.8: Phân bố dân tộc của thai phụ được chọn ới	66
Bảng 3.9: Đặc điểm tế bào hồng cầu theo tuổi thai ở nhóm chọn ới	66
Bảng 3.10: Đặc điểm tế bào hồng cầu theo phân loại thiếu máu ở nhóm chọn ới	67
Bảng 3.11: Xét nghiệm đột biến gen của thai phụ được chọn ới	68
Bảng 3.12: Phân bố đột biến gen của thai phụ	69
Bảng 3.13: Phân bố đột biến gen thalassemia của thai từ nước ới.	71
Bảng 3.14: Mối liên quan giữa kiểu gen của thai và xét nghiệm đột biến gen thalassemia của mẹ	73
Bảng 3.15: Liên quan giữa kết quả đột biến gen và HGB của thai phụ	74
Bảng 3.16: Liên quan giữa kết quả MCV và đột biến gen α -thalassemia	75
Bảng 3.17: Liên quan giữa kết quả MCH và đột biến gen α -thalassemia	76

Bảng 3.18: Liên quan giữa kết quả MCV và đột biến gen β -thalassemia	77
Bảng 3.19: Liên quan giữa kết quả MCV và đột biến gen β -thalassemia	78
Bảng 3.20: Mối liên quan giữa kết quả đột biến gen của mẹ và xét nghiệm điện di huyết sắc tố của mẹ	80
Bảng 3.21: Đặc điểm siêu âm thai ở nhóm chọc ối	81
Bảng 3.22: Mối liên quan giữa kiểu gen của thai và siêu âm thai	81
Bảng 3.23: Đặc điểm tiền sử sản khoa ở nhóm chọc ối.....	82
Bảng 3.24: Mối liên quan giữa kiểu gen của thai phụ và tiền sử phù thai.....	82
Bảng 3.25: Mối liên quan giữa kiểu gen của thai và tiền sử sản khoa.....	83

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1: Hồng cầu ở người bình thường và người bị thalassemia.....	3
Hình 1.2: Cấu trúc Hemoglobin gồm Hem và globin kết nối qua vị trí sắt trong hem [17]	4
Hình 1.3: Sự tổng hợp hemoglobin ở các giai đoạn phát triển [19]	6
Hình 1.4: Cơ chế bệnh sinh [20]	6
Hình 1.5: Gen globin α trên nhánh ngắn nhiễm sắc thể 16 [24].....	9
Hình 1.6: Hình ảnh sau khi sinh của thai nhi bị phù thai.....	14
Hình 1.7: Phân bố gen β globin trên nhiễm sắc thể 11	17
Hình 1.8: Sơ đồ cơ chế di truyền bệnh thalassemia	32
Hình 2.1: Sơ đồ nghiên cứu	44

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

<i>Biểu đồ 3.1: Tỷ lệ sàng lọc dương tính</i>	<i>58</i>
<i>Biểu đồ 3.2: Tỷ lệ thiếu máu</i>	<i>60</i>
<i>Biểu đồ 3.3: Kết quả xét nghiệm thể tích trung bình hồng cầu</i>	<i>61</i>
<i>Biểu đồ 3.4: Tỷ lệ hồng cầu nhỏ</i>	<i>62</i>
<i>Biểu đồ 3.5: Kết quả xét nghiệm huyết sắc tố trung bình hồng cầu</i>	<i>63</i>
<i>Biểu đồ 3.6: Tỷ lệ hồng cầu nhược sắc</i>	<i>64</i>
<i>Biểu đồ 3.7: Kết quả xét nghiệm đột biến gen thalassemia của thai từ nước ối .</i>	<i>70</i>
<i>Biểu đồ 3.8: Tỷ lệ phát hiện đột biến gen của thai khi chọc ối.....</i>	<i>72</i>
<i>Biểu đồ 3.9: Kết quả xét nghiệm sắt huyết thanh</i>	<i>79</i>
<i>Biểu đồ 3.10: Kết quả xét nghiệm Ferritin huyết thanh</i>	<i>79</i>

DANH MỤC SƠ ĐỒ

Sơ đồ 4.1: Quy trình sàng lọc và chẩn đoán thalassemia tại Hy Lạp	109
Sơ đồ 4.2: Quy trình sàng lọc và chẩn đoán thalassemia tại Canada.	112
Sơ đồ 4.3: Quy trình sàng lọc và chẩn đoán thalassemia tại Thái Lan.....	114
Sơ đồ 4.4: Quy trình sàng lọc và chẩn đoán trước sinh thalassemia.	117

ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh Thalassemia là nhóm bệnh thiếu máu di truyền lặn theo quy luật Mendel do đột biến gen globin làm giảm hoặc không sản xuất globin để tạo thành hemoglobin (Hb), gây ra tình trạng thiếu máu [1]. Bệnh có 2 nhóm chính là α -thalassemia và β -thalassemia tùy theo nguyên nhân đột biến ở gen α -globin hay β -globin. Đây là bệnh thiếu máu di truyền phổ biến trên thế giới, phân bố khắp toàn cầu nhưng có tính địa dư rõ rệt: tỷ lệ cao ở Địa Trung Hải, Trung Đông, Châu Á, Thái Bình Dương [2].

Bệnh alpha-thalassemia xuất hiện ở tất cả các khu vực, các quốc gia cũng như các chủng tộc trên thế giới, với khoảng 5% dân số thế giới mang gen bệnh [3]. Tỷ lệ người mang gen α -thalassemia tại Trung Quốc là 5-15% dân số [4], con số đó ở Hong Kong là 4% [5], ở Thailand là 15-30% [6], ở Lào lên đến 43% [7]. Thể bệnh lâm sàng nặng nhất của bệnh alpha thalassemia là phù thai Hb Bart's. Người phụ nữ có thai bị phù thai Hb Bart's là một trường hợp thai nghén có nguy cơ cao cả về phía mẹ và về phía thai. Về phía thai: thường thai chết trong tử cung hoặc ngay sau sinh. Về phía mẹ: nếu có kèm phù rau thai thì mẹ nhiều nguy cơ tiền sản giật và băng huyết sau đẻ [8].

Bệnh beta-thalassemia thường thấy ở người gốc Trung Đông, Địa Trung Hải, Tiểu lục địa Ấn Độ và Đông Nam Á [9],[10]. Thể bệnh lâm sàng nặng nhất của bệnh beta thalassemia với kiểu gen bệnh đồng hợp tử, có biểu hiện bệnh thiếu máu tan máu nặng nề với nhiều biến chứng trên nhiều cơ quan của cơ thể. Trẻ bị beta- thalassemia đồng hợp tử khi sinh ra vẫn mạnh khỏe nhưng sẽ có các triệu chứng bệnh lý thalassemia thể nặng sớm từ ngay trong năm đầu đời. Những người bệnh này cần điều trị truyền máu và thải sắt suốt đời và chất lượng cuộc sống thấp do các biến chứng của bệnh [11].

Việt Nam là nước có tỷ lệ mắc bệnh cao trên bản đồ thalassemia thế giới, hiện có khoảng 3% dân số mang gen bệnh thalassemia, tỷ lệ mắc bệnh khoảng 0,5-1% đối với người dân tộc kinh, tăng cao 10-25% ở một số dân tộc miền núi [2],[12],[13]. Vấn đề đặt ra là làm thế nào để giảm số người mắc bệnh thalassemia thể nặng và giảm những biến chứng mà họ phải gánh chịu. Có ba giải pháp. Thứ nhất là tư vấn tiền hôn nhân, giúp cho người dân biết mình có mang gen bệnh không và có nguy cơ sinh con bị bệnh thalassemia thể nặng không, nhưng không ngăn cản được việc kết hôn. Thứ hai là chẩn đoán và điều trị sớm bệnh thalassemia giúp nâng cao chất lượng cuộc sống của người bệnh. Thứ ba là sàng lọc và chẩn đoán trước sinh, giúp chẩn đoán sớm thai bị bệnh thalassemia thể nặng ở tuổi thai nhỏ để tư vấn cho gia đình có thể ngừng thai nghén, giúp cho gia đình và xã hội giảm những gánh nặng chăm sóc và điều trị những người bệnh thalassemia thể nặng.

Ngày nay, cơ chế di truyền phân tử của bệnh thalassemia đã được mô tả rõ ràng. Các bằng chứng đã chỉ ra rằng việc mở rộng sàng lọc, tư vấn di truyền kết hợp với chẩn đoán trước sinh ở những cặp đôi có nguy cơ cao sinh con mắc bệnh thalassemia thể nặng đã giúp giảm tỷ lệ chết và tỷ lệ mắc bệnh thalassemia [14],[15]. Tại miền Bắc Việt Nam, có nhiều nghiên cứu về bệnh thalassemia song chưa có nghiên cứu nào tiến hành sàng lọc và chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia ở phụ nữ có thai. Với mong muốn thiết lập được một quy trình sàng lọc những người mang gen thalassemia, tư vấn di truyền và chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia, chúng tôi tiến hành nghiên cứu:

“Nghiên cứu sàng lọc bệnh Thalassemia ở phụ nữ có thai đến khám và điều trị tại bệnh viện Phụ Sản Trung Ương”, với hai mục tiêu:

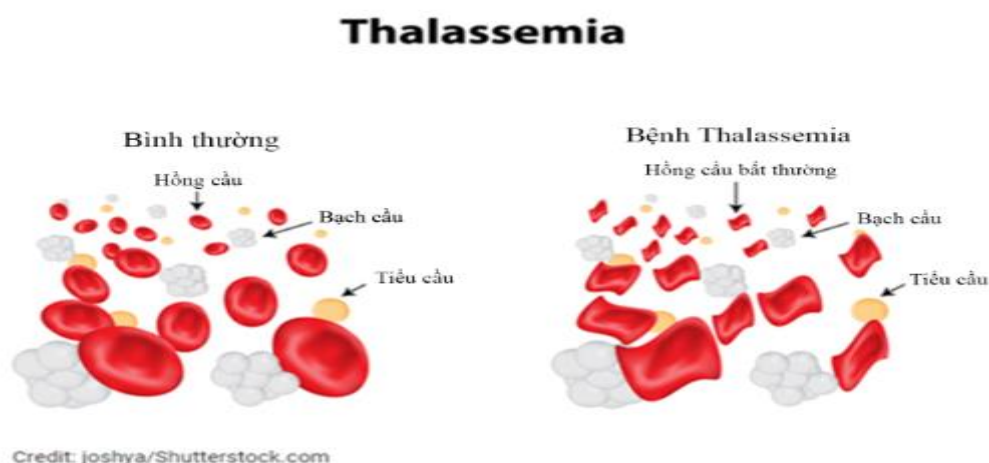
1. Mô tả một số chỉ số huyết học của các thai phụ tham gia sàng lọc bệnh thalassemia tại Bệnh viện Phụ Sản Trung Ương.
2. Phân tích kết quả chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia tại Bệnh viện Phụ Sản Trung Ương.

Chương 1

TỔNG QUAN

1.1. Cơ chế bệnh sinh của bệnh thalassemia

1.1.1. Cấu tạo và chức năng của hồng cầu



Hình 1.1: Hồng cầu ở người bình thường và người bị thalassemia

Hồng cầu là những tế bào không nhân, soi dưới kính hiển vi giống như những chiếc đĩa lõm hai mặt, màu vàng rạ; trên phiến kính nhuộm giemsa thấy hồng cầu hình tròn, màu hồng, ở giữa nhạt màu hơn.

Kích thước hồng cầu: 7-7,5 micromet; dày 2,3 micromet.

Đời sống trung bình hồng cầu: 100-120 ngày.

Nơi sản sinh hồng cầu: tủy xương.

Nơi phân hủy hồng cầu: hồng cầu già bị phân hủy chủ yếu tại lách, tủy xương và gan. Hàng ngày có khoảng 0,85-1% tổng số hồng cầu già bị phân hủy (tan máu sinh lý) và một tỷ lệ tương tự hồng cầu non được sinh ra để thay thế.

Nhiệm vụ cơ bản của hồng cầu là vận chuyển oxy tới các tổ chức, các mô, các tế bào trong cơ thể thông qua vai trò của huyết sắc tố (hemoglobin) chứa trong hồng cầu [16]. Enzyme carbonic anhydrase trong hồng cầu làm tăng lên hàng nghìn lần vận tốc của phản ứng CO_2 với H_2O tạo ra H_2CO_3 .

Nhờ đó mà nước trong huyết tương vận chuyển CO_2 dưới dạng các ion bicarbonat (HCO_3^-) từ các mô trở lại phổi để tái tạo CO_2 và thải ra dưới thể khí. Khi ở cơ thể người, hemoglobin cần phải được chứa trong hồng cầu, vì nếu hemoglobin ở dạng tự do, nó sẽ dần thấm qua các mao mạch và bị thất thoát qua nước tiểu.

Thông số ở người bình thường:

- ✓ Số lượng hồng cầu (RBC): từ 4,0 đến 5,2 Tera/lit.
- ✓ Huyết sắc tố (HGB): từ 120 đến 160 gram/lit.
- ✓ Thể tích trung bình hồng cầu (MCV): từ 80 đến 100 fentolit.
- ✓ Huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCH): từ 28 đến 32 picrogram.

Theo tổ chức Y tế thế giới (WHO), thiếu máu là hiện tượng giảm lượng huyết sắc tố và số lượng hồng cầu trong máu ngoại vi dẫn đến thiếu Oxy cung cấp cho các mô tế bào trong cơ thể. Thiếu máu khi nồng độ Hemoglobin thấp hơn:

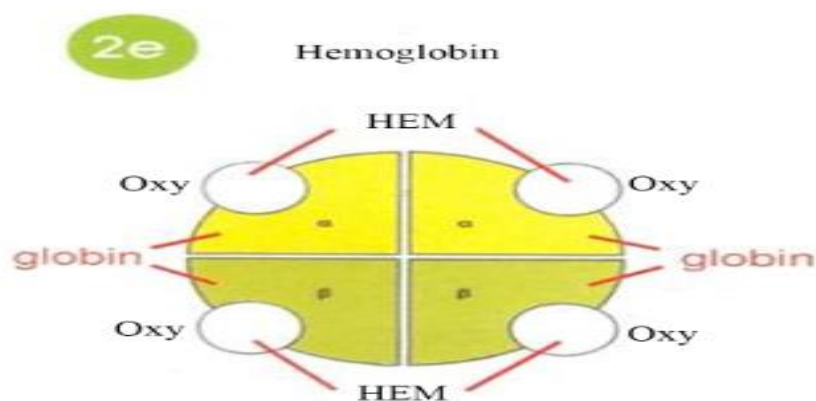
130 g/l ở nam giới

120 g/l ở nữ giới

110 g/l ở người lớn tuổi và phụ nữ có thai

MCV nhỏ hơn 80fl là hồng cầu nhỏ. MCH nhỏ hơn 28pg là hồng cầu nhược sắc.

1.1.2. Hemoglobin



Hình 1.2: Cấu trúc Hemoglobin gồm Hem và globin kết nối qua vị trí sắt trong hem [17]

Hemoglobin là thành phần chính của hồng cầu, đảm nhiệm chức năng vận chuyển O_2 từ phổi đến mô và CO_2 từ mô về phổi. Mỗi hồng cầu có khoảng 300 triệu phân tử hemoglobin. Cấu tạo hemoglobin gồm 2 thành phần là hem và globin. Mỗi phân tử hemoglobin gồm 4 đơn vị, mỗi đơn vị có 1 chuỗi globin và 1 nhân hem. Hem có cấu trúc Fe^{++} với 4 vòng porphyrin; sắt có 6 kết nối: 4 với porphyrin, 1 với nitrogen của histidine và 1 với oxy. Mỗi phân tử hemoglobin có 2 cặp chuỗi globin giống nhau từng đôi một nhưng thuộc 2 loại khác nhau, mỗi chuỗi được ký hiệu bằng ký tự Hy Lạp: α (alpha), β (beta), δ (delta), γ (gamma), ϵ (epsilon), ξ (zeta) [17].

- Cấu trúc sơ cấp của globin gồm:

- Họ α gồm chuỗi α và ξ : có 141 acid amin
- Họ β gồm các chuỗi β , δ , γ và ϵ : có 146 acid amin

Số lượng acid amin trong chuỗi polypeptid đặc trưng cho từng loại chuỗi. Trình tự các acid amin trong chuỗi rất nghiêm ngặt, sự thay thế acid amin này bằng acid amin khác trong nhiều trường hợp biểu hiện thành những bệnh của huyết sắc tố (bệnh của hemoglobin do bất thường chất lượng hemoglobin).

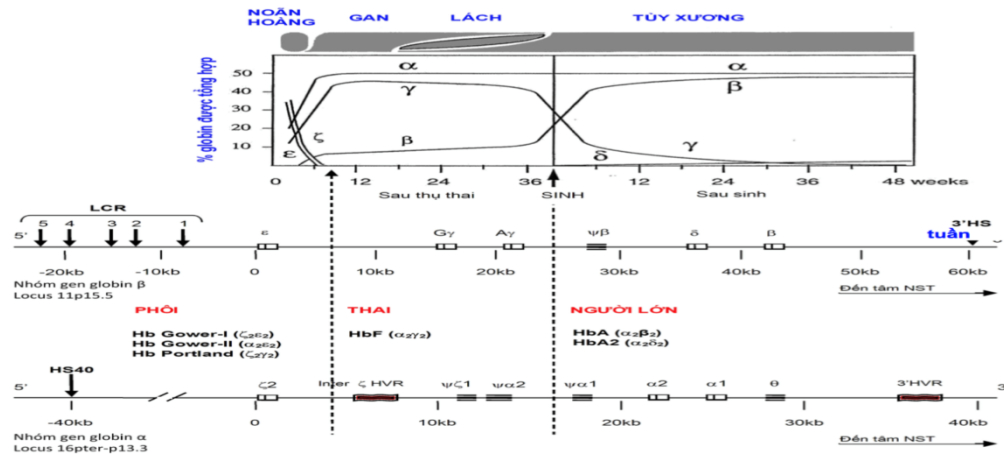
- Cấu trúc thứ cấp của globin hình xoắn ốc

- Cấu trúc bậc 3 của globin: các chuỗi polypeptid cuộn lại thành hình cầu nên giảm diện tích và giảm tiếp xúc bên ngoài.

- Cấu trúc bậc 4 của globin: 4 chuỗi globin cặp đôi tạo nên hình cầu kín.

Tùy theo giai đoạn phát triển cá thể mà globin gồm các chuỗi polypeptid khác nhau: Zeta (ξ), epsilon (ϵ), gamma (γ), alpha (α), beta (β), delta (δ). Các gen chi phối sự hình thành chuỗi epsilon, gamma, beta và delta nằm trên nhiễm sắc thể số 11. Các gen chi phối sự hình thành chuỗi alpha và zeta nằm trên nhiễm sắc thể số 16.

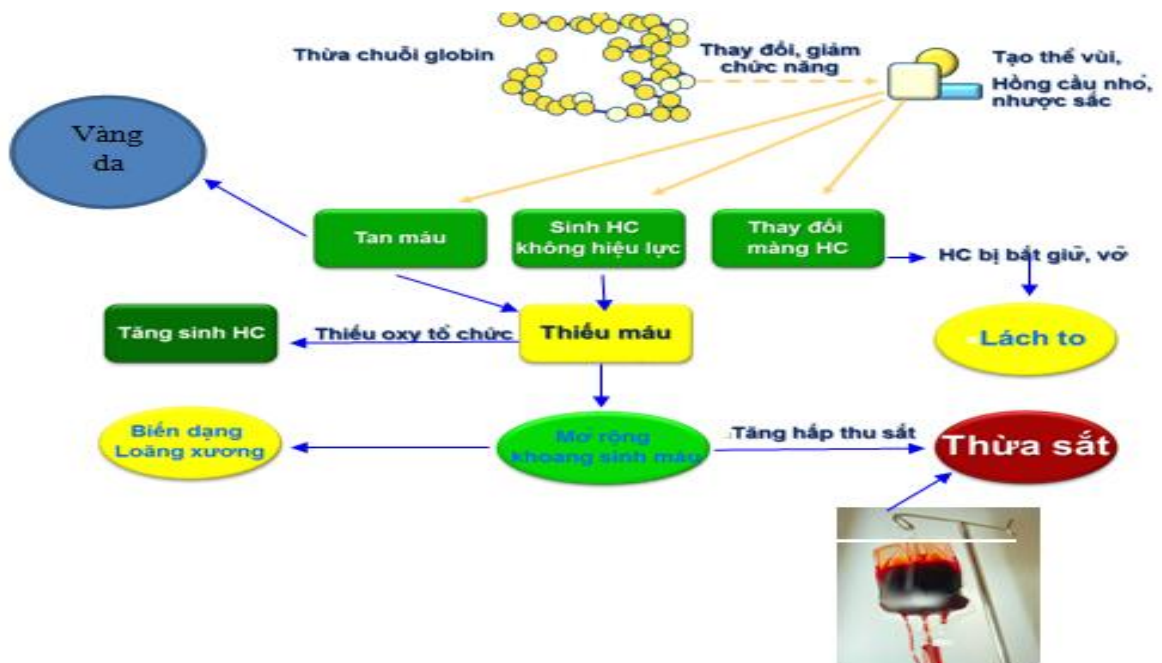
Trong giai đoạn phôi, Hb chủ yếu là Hb Gower I ($\zeta_2\varepsilon_2$). Hb Gower II ($\alpha_2\varepsilon_2$) và Hb Portland ($\zeta_2\gamma_2$) được thấy trong giai đoạn khi những gen của phôi đóng và những gen của thai mở. Trong giai đoạn thai, Hb chủ yếu là HbF ($\alpha_2\gamma_2$). Trong giai đoạn trưởng thành, Hb chủ yếu là HbA ($\alpha_2\beta_2$) và một ít HbA2 ($\alpha_2\delta_2$)[18].



Hình 1.3: Sự tổng hợp hemoglobin ở các giai đoạn phát triển [19]

Người trưởng thành có 97,5% HbA, khoảng 2% HbA2 và khoảng 0,5% HbF.

1.1.3. Cơ chế bệnh sinh



Hình 1.4: Cơ chế bệnh sinh [20]

1.1.3.1. Giảm sản xuất chuỗi globin

- Chuỗi α -globin kết hợp với các chuỗi giống β -globin theo lực hút tĩnh điện: chuỗi α -globin có điện tích (+), chuỗi nhóm β -globin có điện tích (-), điện tích chuỗi β mạnh hơn các chuỗi δ , γ .
- Bệnh alpha thalassemia: giảm tổng hợp chuỗi α -globin nên giảm kết nối giữa chuỗi α với các chuỗi β , δ , γ . Hậu quả là giảm HbA, HbF, HbA₂.
- Bệnh β -thalassemia: giảm tổng hợp chuỗi β -globin nên tăng kết nối giữa chuỗi α với các chuỗi δ , γ . Hậu quả là giảm HbA, tăng HbF, tăng HbA₂.

1.1.3.2. Thay đổi Hemoglobin

- Do đột biến gen globin dẫn đến giảm hoặc không sản xuất chuỗi α -globin hoặc β -globin dẫn đến giảm tổng hợp hemoglobin, gây ra hồng cầu nhỏ nhược sắc.
- Cũng do giảm hoặc không sản xuất chuỗi α -globin hoặc β -globin dẫn đến mất cân bằng tổng hợp chuỗi α -globin và β -globin, tạo ra những chuỗi globin dư thừa không hòa tan, kết tụ làm tổn thương màng đáy tế bào-làm thay đổi màng các tế bào tiền thân dòng hồng cầu trong tủy xương. Trong bệnh β -thalassemia, những thể vùi lớn làm phá hủy nguyên hồng cầu gây ra sinh hồng cầu không hiệu lực; trong thể nặng, phần lớn tế bào dòng hồng cầu bị phá hủy ngay khi còn ở trong tủy xương. Trong bệnh α -thalassemia, các thể vùi kết tụ trong hồng cầu trưởng thành nên hồng cầu dễ bị phá hủy trong vi mạch tại lách.
- Tủy tăng sinh nhưng tạo hồng cầu không hiệu lực, nhiều hồng cầu non bị phá hủy sớm, đời sống hồng cầu bị rút ngắn, tan máu gây lách to và vàng da, hậu quả sớm và nặng nề là thiếu máu.
- Để bù trừ thiếu máu, tủy tăng sinh, khoang sinh máu (khoang tủy) mở rộng, vỏ xương mỏng, loãng xương, làm biến dạng xương toàn bộ, đặc biệt là xương sọ, mặt.

- Do thiếu máu nặng, phải truyền máu nhiều, kết hợp với tăng hấp thu sắt ở ruột gây thừa sắt, nhiều mô và cơ quan nhiễm sắt nặng nề. Nhiễm sắt ở da biểu hiện xạm da; nhiễm sắt ở gan làm gan to, xơ gan; nhiễm sắt ở tim gây rối loạn chức năng tim, chết do suy tim; nhiễm sắt ở hệ nội tiết gây chậm phát triển, chậm dậy thì, thiếu năng tuyến giáp, suy tuyến yên, suy tuyến thượng thận, tiểu đường [21].

1.2. Bệnh alpha thalassemia

1.2.1. Khái niệm

Bệnh alpha thalassemia xảy ra do đột biến của gen mã hóa cho việc tổng hợp chuỗi α globin dẫn đến việc giảm hoặc không có chuỗi α globin trong phân tử hemoglobin. Sự suy giảm tổng hợp này dẫn đến sự tăng tổng hợp quá mức của chuỗi β globin tạo phân tử γ_4 , gọi là Hb Bart's (trong thời kỳ bào thai), và β_4 , gọi là HbH (trong thời kỳ trưởng thành) [22]. Chuỗi α globin được tổng hợp từ 4 gen, trong đó có 2 gen HBA1 và 2 gen HBA2. Số lượng chuỗi α globin phụ thuộc vào số gen hoạt động. Người càng có ít gen hoạt động thì chuỗi α globin càng ít, càng mắc thể bệnh alpha thalassemia nặng hơn. Sự kết hợp giữa các dạng allele đột biến khác nhau của bệnh α -thalassemia, cũng như giữa bệnh α và β thalassemia, đã tạo ra nhiều kiểu hình phong phú của bệnh.

Bệnh α -thalassemia là một trong những bệnh huyết sắc tố phổ biến nhất, phân bố khắp thế giới; phổ biến ở châu Á, Trung Đông, châu Phi và vùng Địa Trung Hải. Đây là một trong những nguyên nhân hàng đầu, chiếm tới 60 ÷ 90% các nguyên nhân gây phù thai ở các nước Đông Nam Á [23].

1. 2.2. Cơ sở phân tử

Vùng gen gây bệnh alpha thalassemia nằm trên nhánh ngắn của nhiễm sắc thể 16 (16p13.3), mỗi nhiễm sắc thể có 1 gen HBA1 (gen alpha 1) và 1

gen HBA2 (gen alpha 2). Gen HBA1 có chiều dài 840bp bao gồm 3 exon và 2 intron. Gen HBA2 có chiều dài 830bp bao gồm 3 exon và 2 intron [24],[25].



Hình 1.5: Gen HBA trên nhánh ngắn nhiễm sắc thể 16 [24]

Tùy loại đột biến trên gen HBA mà có các loại allen đột biến của bệnh α -thalassemia là α^0 -thalassemia (nghĩa là đột biến gen dẫn đến không sản xuất chuỗi α -globin) và α^+ -thalassemia (nghĩa là đột biến gen dẫn đến giảm sản xuất chuỗi α -globin).

Bảng 1.1: Các loại allen đột biến của bệnh α -thalassemia:

Loại allen	Mô tả	Đột biến thường gặp
Allen α^0 -thalassemia (--)	Mất cả 2 gen HBA trên cùng 1 nhiễm sắc thể dẫn đến không tổng hợp chuỗi α globin	-- _{SEA} , -- _{MED} , -- _{THAI} , -- _{FIL}
Allen α^+ -thalassemia (- α) hoặc ($\alpha^T\alpha$)	Mất hoặc bất hoạt 1 gen HBA trên 1 nhiễm sắc thể dẫn đến giảm tổng hợp chuỗi α globin	- $\alpha^{3.7}$, - $\alpha^{4.2}$, - α^{HbCs} , - α^{HbQs}

Theo nghiên cứu trên quần thể người Đông Nam Á, các đột biến thường gặp gây alpha thalassemia bao gồm[22]:

- Mất đoạn lớn dạng *SEA* (Đông Nam Á) chiếm khoảng trên 90%.
- Dạng *Thailand* và *Philipin* chiếm khoảng 1-2%, dạng $\alpha^{4.2}$ và $\alpha^{3.7}$ chiếm khoảng 3-4%.
- Đột biến điểm *HbQs*, *HbCs* chỉ chiếm 3-4%.

Theo nghiên cứu của Nguyễn Khắc Hân Hoan tại bệnh viện Từ Dũ, có 98,7% bệnh alpha thalassemia do 4 loại đột biến gây ra: --^{SEA}; - $\alpha^{3.7}$; $\alpha^{CS}\alpha$; - $\alpha^{4.2}$ [26].

Gen HBA1 và HBA2 đều mã hóa các chuỗi α globin gồm 141 acid amin nhưng do trình tự khởi động (promoter) của 2 gen khác nhau nên khả năng biểu hiện của gen HBA2 mạnh hơn gen HBA1 từ 2 đến 3 lần. Vì vậy các đột biến xảy ra ở gen HBA2 thường có hậu quả nặng nề hơn những đột biến ở gen HBA1 [18].

1.2.3. Quy luật di truyền

Quy luật di truyền: theo quy luật alen lặn trên nhiễm sắc thể thường.

Cơ chế di truyền: bệnh có thể do gen bệnh truyền từ bố, mẹ cho con hoặc do đột biến mới phát sinh qua quá trình tạo giao tử ở bố hoặc mẹ đi vào thể hệ con. Con sẽ nhận 1 NST 16 mang 2 gen HBA từ mẹ và nhận 1 NST 16 mang 2 gen HBA từ bố, do đó nguy cơ mắc bệnh alpha thalassemia ở con tùy thuộc vào số gen bị đột biến con nhận được từ bố mẹ.

Người ta đưa ra một số nguyên nhân dẫn đến không tổng hợp hoặc giảm tổng hợp chuỗi α globin:

- Do kết quả trao đổi chéo không cân bằng dẫn tới mất một gen HBA.
- Khuyết đoạn lớn trên nhiễm sắc thể số 16 có thể dẫn tới mất 2 gen HBA.
- Những đột biến vô nghĩa hoặc đột biến khung có thể dẫn đến mất chức năng của gen HBA.

Đến nay, hơn 300 loại đột biến trên vùng gen HBA đã được phát hiện, bao gồm các đột biến mất đoạn lớn - mất đoạn cả 2 gen (mất 1 phần hoặc toàn bộ cả 2 gen HBA), đột biến mất đoạn nhỏ - mất đoạn 1 gen (mất 1 phần hoặc toàn bộ gen HBA1 hoặc gen HBA2) và đột biến điểm [27].

1.2.4. Triệu chứng và các thể bệnh lâm sàng

1.2.4.1. Alpha thalassemia thể ẩn

Trong 4 alen có 1 alen không hoạt động, kiểu gen của người thuộc thể bệnh này là ($\alpha\alpha/\alpha^-$). Người mang kiểu gen này thường không biểu hiện triệu chứng lâm sàng cũng như cận lâm sàng. Thể bệnh này còn gọi là người mang gen α^+ -thalassemia hay người lành mang gen bệnh.

1.2.4.2. Alpha thalassemia thể nhẹ

Trong 4 alen có 2 alen không hoạt động, loại này gọi là α thalassemia thể nhẹ hay người mang gen α^0 -thalassemia. Người này không có biểu hiện triệu chứng lâm sàng nhưng xét nghiệm máu có giảm MCV và MCH và là người truyền bệnh sang con. Người thuộc thể bệnh này có 2 kiểu gen là:

($\alpha\alpha/--$): cả hai gen HBA trên cùng một nhiễm sắc thể bị đột biến, hai gen trên nhiễm sắc thể kia bình thường (dạng cis-dị hợp tử α^0 -thal). Loại này chủ yếu gặp ở Đông Nam Á.

(α^-/α^-): trên hai nhiễm sắc thể, mỗi nhiễm sắc thể có một alen bị đột biến, alen kia hoạt động bình thường (dạng trans-Đồng hợp tử α^+ -thal). Thể bệnh này thường gặp ở châu Phi [28].

1.2.4.3. Bệnh hemoglobin H (HbH)- thể trung gian

Trong 4 alen có 3 alen không hoạt động, chỉ có 1 alen HBA hoạt động, kiểu gen của người bệnh này là ($\alpha^-/--$). Người bệnh mang kiểu gen này là dị hợp tử kép α^0 - α^+ thal, con của cặp bố mẹ mà một trong hai người mang gen α^+ -thalassemia còn người kia mang gen α^0 -thalassemia.

Cơ chế bệnh sinh: cơ thể người bệnh HbH chỉ có 1 gen HBA hoạt động nên không sản xuất đủ chuỗi α globin để tạo nên HbA của người bình thường ($\alpha_2\beta_2$), thay vào đó có sự tăng sản xuất chuỗi β globin. Cứ 4 phân tử β globin (β_4) sẽ kết hợp lại thành một hemoglobin mới trong máu của người bệnh là hemoglobin H (HbH). HbH có chức năng tương tự HbA trong việc tiếp nhận và giải phóng Oxy của cơ thể. Tuy nhiên cấu trúc của HbH không bền vững

như HbA nên hồng cầu của người bị bệnh HbH dễ bị phá hủy hơn, có đời sống ngắn hơn người bình thường dẫn đến biểu hiện lâm sàng là thiếu máu vừa hoặc nặng, biểu hiện ngay từ khi mới sinh, có thể kèm theo các biến chứng khác như lách to, sỏi mật, tăng nguy cơ nhiễm khuẩn, vàng da,... đặc biệt trong các trường hợp thiếu máu nặng cần truyền máu thường xuyên. Xét nghiệm trong máu có HbH (β_4), giảm MCH và MCV.

Đa số người bệnh HbH có biểu hiện thiếu máu nhẹ, không cần truyền máu, chỉ cần khám và theo dõi định kỳ. Một số người bệnh có biểu hiện thiếu máu trầm trọng bắt buộc phải điều trị. Những người bị bệnh HbH cần được tư vấn trước kết hôn và sàng lọc trước sinh vì họ là người truyền gen bệnh cho thế hệ sau. Nếu bạn đời của họ là người cũng bị bệnh HbH hoặc người mang gen α -thalassemia dạng cis thì có 25% nguy cơ sinh con bị phù thai Hb Bart's.

1.2.4.4. Bệnh phù thai hemoglobin Bart's- thể nặng

Không có gen HBA nào hoạt động, kiểu gen của người bệnh là (--/--), tức là đồng hợp tử α^0 -thal. Đây là thể bệnh nặng nhất trong các thể bệnh α thalassemia. Người bệnh mang kiểu gen này thường có bố mẹ mang kiểu gen $\alpha\alpha$ /-- hoặc α /--/. Tỷ lệ mắc bệnh ở con trong một lần sinh là 1 phần 4 theo quy luật di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường của Mendel.

Cơ chế bệnh sinh: khi cả 4 gen HBA bị đột biến thì cơ thể không sản xuất được chuỗi α globin để tham gia tạo thành HbA bình thường, thay vào đó cơ thể tăng sản xuất γ globin – thành phần cấu tạo nên HbF của thai. Bốn phân tử γ globin (γ_4) kết hợp với nhau tạo thành hemoglobin Bart's không có khả năng vận chuyển oxy, do đó không duy trì được sự sống. Thai mang hemoglobin Bart's giai đoạn đầu phát triển bình thường do còn một lượng Hb bào thai Portland ($\zeta_2\gamma_2$) tồn tại, là loại Hb duy nhất có chức năng vận chuyển oxy để duy trì sự sống cho bào thai, sau đó xuất hiện tình trạng suy tim dẫn đến phù thai và phù rau thai do ứ nước. Tiên lượng cho thai là thai chết trong

tử cung hoặc chết ngay sau sinh nếu không được điều trị. Đối với mẹ, ở giai đoạn muộn, khi có biểu hiện phù rau thai thì người mẹ dễ bị tiền sản giật, làm tăng nguy cơ bị các tai biến sản khoa như tiền sản giật và băng huyết sau đẻ. Bệnh phù thai (Hydrops Fetalis) gặp chủ yếu ở châu Á, đặc biệt ở Trung Quốc, Cam-pu-chia, Việt Nam, Thái Lan và Philippin. Trẻ sơ sinh có biểu hiện phù toàn thân và gan to, lách to. Thiếu máu thường rất nặng với lượng Hb dao động trong khoảng từ 30 đến 100g/L. Hồng cầu có hình thái nhỏ và nhược sắc, hình bia bắn và có số lượng lớn hồng cầu non ra máu ngoại vi. Điện di hemoglobin cho thấy có lượng lớn Hb Bart's, với lượng nhỏ Hb H. Đôi khi, trên kết quả điện di cũng có thể gặp một lượng nhỏ Hb Portland ($\zeta_2\gamma_2$) nằm ở vị trí của Hb A. Các loại Hb A và Hb F hoàn toàn không thấy có trên kết quả điện di. Vì vậy dự phòng bệnh phù thai này là vô cùng quan trọng. Chẩn đoán trước sinh sớm, truyền máu cho thai từ trong tử cung là những giải pháp giúp cải thiện một phần nhỏ tình trạng thai bị bệnh Hb Bart's [28]. Chẩn đoán trước sinh được phù thai Hb Bart's thì nên tư vấn cho thai phụ ngừng thai, càng sớm càng tốt khi chưa có biểu hiện phù rau thai để đỡ tai biến sản khoa cho mẹ.

Chẩn đoán phù thai bằng siêu âm thai, tuy nhiên để chẩn đoán xác định phù thai do bệnh alpha thalassemia thì cần sinh thiết gai rau hoặc chọc ối để phân tích các đột biến gen α globin bằng các kỹ thuật di truyền phân tử [29].



Hình 1.6: Hình ảnh sau khi sinh của thai nhi bị phù thai

1. 2.5. Sàng lọc và Chẩn đoán trước sinh bệnh α -thalassemia

Dựa vào quy luật di truyền và các thể bệnh lâm sàng của bệnh α -thalassemia chúng ta thấy vấn đề cần chẩn đoán trước sinh bệnh α -thalassemia để chẩn đoán được sớm những trường hợp phù thai Hb Bart's với kiểu gen của thai là đồng hợp tử α^0 ($--/--$). Những trường hợp này thai không sống được và mẹ tăng tai biến thai sản, do đó chẩn đoán được sớm sẽ tư vấn thai phụ ngừng thai sớm. Những trường hợp thai bị bệnh HbH (kiểu gen $\alpha/-$) cũng cần được chẩn đoán trước sinh sớm, nếu kiểu gen tương ứng với kiểu hình bệnh α -thalassemia nhẹ, không hoặc ít phải truyền máu thì tư vấn tiếp tục theo dõi thai và quản lý bệnh α -thalassemia sau sinh, nếu kiểu gen tương ứng với kiểu hình bệnh α -thalassemia phụ thuộc truyền máu thì tư vấn cho gia đình để quyết định tiếp tục theo dõi thai hay không.

Theo quy luật di truyền, những trường hợp bố, mẹ bị bệnh HbH (kiểu gen $\alpha/-$) hoặc mang gen dị hợp tử α^0 dạng cis (kiểu gen $\alpha\alpha/-$) thì có nguy cơ sinh con bị phù thai Hb Bart's là 25% trong mỗi một lần sinh. Những người bị bệnh HbH có thể biết mình bị bệnh thì sẽ được các bác sĩ chuyên khoa huyết học tư vấn trước về nguy cơ sinh con bị bệnh và có thể họ chủ động đi làm chẩn đoán trước sinh cho thai. Những người mang gen dị hợp tử α^0 là những

người không có biểu hiện lâm sàng, do đó họ có thể sống cả đời bình thường mà không biết mình mang gen bệnh. Những người bệnh α -thalassemia thể ẩn chỉ mang một gen đột biến cũng có thể truyền gen bệnh cho con gây ra con bị bệnh HbH. Do vậy, cần sàng lọc để tìm ra được những cặp vợ chồng có nguy cơ truyền gen bệnh cho con. Căn cứ vào đặc điểm xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi của những người bị α -thalassemia thể trung gian và thể nhẹ đều có biểu hiện giảm thể tích trung bình hồng cầu (MCV) và giảm huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCH), các bác sĩ sản khoa chỉ định xét nghiệm này để tìm ra những cặp vợ chồng có nguy cơ mang gen bệnh. Tổ chức Y tế thế giới (WHO) và hội Thalassemia quốc tế (TIF) khuyến cáo phương pháp sàng lọc bệnh thalassemia dựa vào hai chỉ số $MCV < 80\text{fL}$ và $MCH < 28\text{pg}$. Tuy nhiên cách tiếp cận này có thể bỏ sót các trường hợp người mang gen α^+ -thalassemia loại mất đoạn một gen (α -thalassemia thể ẩn), vì những dạng bệnh này có MCV và MCH bình thường. Điện di huyết sắc tố thấy xuất hiện HbH trong bệnh HbH, còn thể bệnh thể nhẹ và thể ẩn thì kết quả điện di huyết sắc tố bình thường. Để chẩn đoán chính xác thì cặp vợ chồng phải được làm xét nghiệm tìm đột biến gen α -thalassemia. Để chẩn đoán cho thai thì phải lấy bệnh phẩm của thai (như chọc ối, sinh thiết gai rau) làm xét nghiệm tìm đột biến gen α -thalassemia.

Thời điểm sàng lọc tốt nhất là trước khi mang thai hoặc trong khi có thai 3 tháng đầu. Các thai phụ được xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi, nếu có hồng cầu nhỏ ($MCV < 80\text{fL}$), nhược sắc ($MCH < 28\text{pg}$) thì sàng lọc tiếp chồng cũng bằng xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi. Nếu cả hai vợ chồng cùng hồng cầu nhỏ nhược sắc thì được tư vấn xét nghiệm đột biến gen và chẩn đoán trước sinh cho thai.

1.3. Bệnh beta thalassemia

1.3.1. Khái niệm

Bệnh β thalassemia xảy ra do đột biến điểm trên các locus tạo chuỗi β làm giảm hoặc mất chức năng của gen mã hóa cho việc tổng hợp β globin, dẫn đến giảm hoặc không tổng hợp được chuỗi β globin.

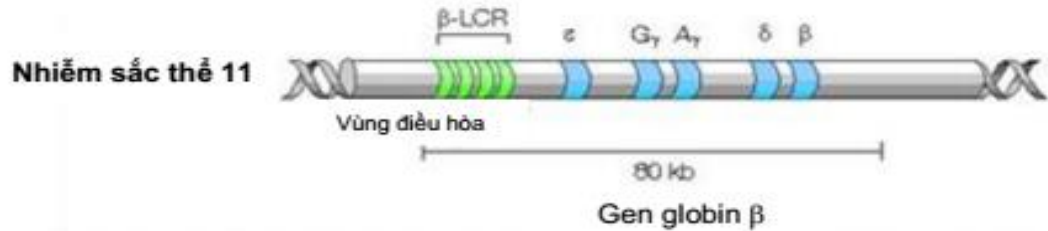
Theo Liên đoàn Thalassemia quốc tế, năm 2005 ước tính có 1,5% dân số thế giới mang gen β -thalassemia (khoảng 80 - 90 triệu người mang gen bệnh) và mỗi năm có thêm tới 60.000 trường hợp mới sinh mang gen bệnh. Riêng khu vực Đông Nam Á trong đó có Việt Nam, ước tính số người mang gen β -thalassemia chiếm tới 50% tổng số người mang gen toàn cầu. Tần số mang gen β -thalassemia rất cao ở nhiều nước Địa Trung Hải như ở Ả rập Xê út là 10%, Hy Lạp là 8%, Italia là 4,8% [9],[10].

1.3.2. Cơ sở phân tử

Vùng gen HBB quy định tổng hợp chuỗi beta globin nằm trên nhánh ngắn nhiễm sắc thể 11 (11p15.5) dài 1600bp, gồm 3 exon và 2 intron. Khi có đột biến gen HBB sẽ gây giảm hoặc không sản xuất chuỗi β globin của hemoglobin, gây nên bệnh β -thalassemia. Đột biến có thể là những thay đổi ở một base đơn thuần, có thể là mất một hay nhiều nucleotid, có thể là đảo đoạn hay tái sắp xếp chuỗi DNA do đó ảnh hưởng lên một trong nhiều giai đoạn sản sinh chuỗi globin. Những mất đoạn lớn trong cụm gen HBB có thể làm mất hay chuyển một hoặc nhiều gen, làm tổn hại đến 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, tăng hoạt động của các gen khác trong cụm xung quanh, kết quả là làm thay đổi tỉ lệ tổng hợp các chuỗi globin [30].

Ngày nay có hơn 300 đột biến đã được tìm thấy trên gen HBB gồm 2 nhóm: nhóm làm mất hoàn toàn chức năng của gen HBB dẫn đến không sản xuất được chuỗi β globin và nhóm làm giảm sản xuất chuỗi β globin. Trong số đó có khoảng 250 là đột biến điểm, còn lại là đứt đoạn ngắn và một số loại

hiếm gặp khác; có khoảng 20 đột biến hay gặp chiếm 80% các đột biến trên gen HBB khắp thế giới.



Hình 1.7: Phân bố gen HBB trên nhiễm sắc thể 11

Có 8 loại đột biến gây bệnh β -thalassemia thường gặp ở người Việt Nam [31]:

Bảng 1.2: Các đột biến gây bệnh β -thalassemia thường gặp ở người Việt Nam

STT	Loại đột biến	Kiểu đột biến	Thể bệnh Thalassemia
1	-28	A > G	β^+
2	codon 17	A > T	β°
3	IVS 1-5	G > C	β^+
4	codon 41/42	-TTCT	β°
5	codon 71/72	+ A	β°
6	IVS 2-654	C > T	β^+
7	codon 26	GAG > AAG	β^+
8	IVS 1-1	G > T	β^+

1.3.3. Quy luật di truyền

Bệnh di truyền theo quy luật alen lặn trên nhiễm sắc thể thường.

Cơ chế di truyền: bệnh có thể do gen bệnh truyền từ bố, mẹ cho con hoặc do đột biến mới phát sinh qua quá trình tạo giao tử ở bố hoặc mẹ đi vào thể hệ con. Locus gen HBB nằm trên nhiễm sắc thể số 11. Con sẽ nhận 1 NST 11 mang 1 HBB từ mẹ và nhận 1 NST 11 mang 1 HBB từ bố, do đó nguy cơ mắc bệnh β -thalassemia ở con tùy thuộc vào số gen bị đột biến con nhận được từ bố mẹ.

Nếu người mang một trong hai gen HBB bị đột biến không hoạt động, một gen còn hoạt động vẫn sản xuất một lượng nhỏ β globin thì gọi là người mang gen bệnh, có kiểu gen dị hợp tử và có kiểu hình là bệnh beta thalassemia thể nhẹ.

Nếu cả hai gen đều bị đột biến mất chức năng hoàn toàn, không sản xuất được β globin thì người bệnh có kiểu gen đồng hợp tử và biểu hiện kiểu hình là bệnh beta thalassemia thể nặng hoặc thể trung gian. Những người này nhận một nhiễm sắc thể 11 mang gen bệnh từ bố và một nhiễm sắc thể 11 mang gen bệnh từ mẹ. Như vậy cả bố và mẹ có thể là người bị bệnh hoặc là người mang gen bệnh. Những trường hợp đột biến 2 gen HBB ở những locus khác nhau nhưng loại đột biến đó cùng dẫn đến không sản xuất được β globin thì kiểu gen là dị hợp tử kép nhưng biểu hiện kiểu hình của người mang đột biến đồng hợp tử.

1.3.4. Triệu chứng và các thể bệnh lâm sàng

Xét nghiệm điện di hemoglobin đặc hiệu cho bệnh β thalassemia với ba biểu hiện: HbF tăng, HbA₂ tăng và HbA giảm. Xét nghiệm di truyền xác định gen bệnh có giá trị chẩn đoán chính xác bệnh và thể loại bệnh

1.3.4.1. Bệnh beta thalassemia thể nhẹ

Nếu người mang một trong hai gen HBB bị đột biến không hoạt động, một gen còn hoạt động vẫn sản xuất một lượng nhỏ β globin thì gọi là người mang gen bệnh, có kiểu gen dị hợp tử và có kiểu hình là bệnh beta thalassemia thể nhẹ.

Người mang bệnh không có triệu chứng lâm sàng, không phải điều trị hay theo dõi về y tế, tuy nhiên do một gen HBB bị đột biến nên lượng hemoglobin được tổng hợp ít hơn bình thường, do đó hồng cầu của những người này nhỏ hơn và nhược sắc hơn của người bình thường.

Xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu của các bệnh nhân thể nhẹ cho thấy hình ảnh hồng cầu nhỏ và nhược sắc. Số lượng hồng cầu có thể trong giới hạn bình thường hoặc tăng. Tuy nhiên, khác với bệnh thiếu máu do thiếu

sắt, lượng ferritin, sắt huyết thanh, nồng độ bão hòa transferin, khả năng gắn sắt toàn bộ thường trong giới hạn bình thường. Điện di hemoglobin cho thấy lượng HbA bình thường hoặc giảm nhẹ, tăng HbA₂, và HbF có thể trong giới hạn bình thường hoặc tăng nhẹ [32],[1].

1.3.4.2. β thalassemia thể trung gian

Người bệnh có cả hai gen HBB đều bị đột biến, hầu hết là có kiểu gen đồng hợp tử hoặc phức hợp dị hợp tử, nghĩa là cả hai locus của gen HBB đều bị ảnh hưởng. Người bệnh thalassemia thể trung gian có biểu hiện lâm sàng đa dạng, ở mức độ nhẹ có thể không có triệu chứng; hoặc chỉ thiếu máu nhẹ ở mức hemoglobin 7-10g/dl, chỉ cần truyền máu vài lần; cũng có người biểu hiện nặng hơn, dù không cần truyền máu thường xuyên nhưng sự tăng trưởng và phát triển cơ thể bị ảnh hưởng.

Chẩn đoán phân biệt thalassemia thể nặng hay thể trung gian rất quan trọng trong việc lựa chọn phương pháp điều trị. Khi chẩn đoán được người bệnh mắc bệnh thalassemia nhẹ, chúng ta tránh được những chỉ định truyền máu không cần thiết và các biến chứng của truyền máu, trong khi đó thalassemia thể nặng được chẩn đoán và truyền máu kịp thời sẽ giúp ngăn cản tiến triển của lách to và nguy cơ tạo kháng thể kháng hồng cầu. Chẩn đoán phân biệt này dựa trên các triệu chứng lâm sàng, huyết học và phân tích di truyền.

Sinh lý bệnh của thalassemia thể trung gian là do giảm tổng hợp chuỗi β - globin, dư thừa chuỗi α - globin, làm sản xuất ra hồng cầu không hiệu quả, dẫn đến thiếu máu và biến dạng xương sọ, mặt; đồng thời tăng sự chết các tế bào hồng cầu dẫn đến ứ sắt trong cơ thể [33].

1.3.4.3. Bệnh β thalassemia thể nặng hay thể đồng hợp tử (bệnh thiếu máu Cooley)

Người bệnh có cả hai gen HBB đều bị đột biến, không sản xuất ra các hemoglobin bình thường (HbA) do đó không thể tạo ra hồng cầu bình thường

Các triệu chứng lâm sàng thường biểu hiện rất sớm từ tháng thứ 7 sau khi sinh và rõ ràng nhất vào lúc trẻ được khoảng 2 tuổi, tình trạng thiếu máu thường rất nghiêm trọng, cần phải truyền máu thường xuyên và điều trị liên tục; có hội chứng hoàng đả, gan lách to, rất chậm phát triển, và biến dạng xương chủ yếu xương hàm và xương trán. Nếu không được điều trị đầy đủ, những người bệnh này có chất lượng cuộc sống rất kém và thường chết sớm.

Xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu: các bệnh nhân thể nặng đa số đều có tình trạng thiếu máu hồng cầu nhỏ và nhược sắc rất nặng. Điện di hemoglobin không thấy hình ảnh của HbA và thay vào đó là HbA2 và HbF.

Các xét nghiệm đánh giá lượng sắt trong cơ thể thường tăng cao, đặc biệt là ở những bệnh nhân được truyền máu nhiều lần[34].

1.3.4.4. HbE/ β -thalassemia

Bệnh hemoglobin E (HbE) xảy ra do đột biến cấu trúc gen mã hóa sự sản xuất chuỗi β globin ở vị trí 26, đột biến G $\rightarrow$ A, làm cho acid glutamic bị thay thế bởi acid lysin, hậu quả là khiếm khuyết gen chuỗi β globin cả về số lượng và chất lượng. Đây không phải bệnh thalassemia nhưng thể bệnh này có thể có biểu hiện lâm sàng giống bệnh thalassemia, đặc biệt khi kết hợp bệnh HbE và bệnh β -thalassemia.

Bệnh HbE phổ biến ở khu vực Đông Nam Á.

Trường hợp dị hợp tử HbE có lâm sàng bình thường, điện di hemoglobin có 25-30% HbE, thay đổi nhẹ các chỉ số hồng cầu.

Thể đồng hợp tử HbE có biểu hiện lâm sàng giống β -thalassemia thể nhẹ, phết máu ngoại biên thấy hồng cầu nhỏ với hồng cầu hình bia chiếm 20-80%, điện di thấy 85-95% HbE và 5-10% HbF.

HbE/ β -thalassemia là sự kết hợp phổ biến nhất của β -thalassemia với một bất thường cấu trúc hemoglobin với các hình thái lâm sàng đa dạng, có thể giống thalassemia thể nặng đến dạng nhẹ của thalassemia thể trung gian.

HbE/ β -thalassemia thể nhẹ: hiếm khi có biểu hiện lâm sàng, hemoglobin có thể cao 9-12g/dl, chẩn đoán bằng xét nghiệm phết máu ngoại biên, sắt huyết thanh và điện di hemoglobin; không cần điều trị.

HbE/ β -thalassemia thể trung bình: bao gồm phần lớn các bệnh nhân HbE/ β -thalassemia. Triệu chứng lâm sàng tương tự β -thalassemia thể trung gian và thường không cần truyền máu trừ khi có biến chứng nhiễm trùng làm thúc đẩy thiếu máu. Nồng độ hemoglobin thường 6-7 g/dl. Có thể có biến chứng ứ sắt.

HbE/ β -thalassemia thể nặng: triệu chứng lâm sàng giống β -thalassemia thể nặng bao gồm thiếu máu, vàng da, gan lách to, biến dạng xương, chậm phát triển thể chất [32].

1.3.5. Chẩn đoán trước sinh bệnh β -thalassemia

Chẩn đoán trước sinh bệnh β -thalassemia rất có hiệu quả do giúp hạn chế sinh ra những trẻ bị bệnh β -thalassemia thể nặng phải điều trị truyền máu và thải sắt suốt đời. Không giống như thai bị bệnh α -thalassemia thể nặng sẽ có biểu hiện phù thai- chẩn đoán được khi siêu âm thai hoặc ngay sau sinh, những người bị bệnh β -thalassemia thể nặng không có biểu hiện lâm sàng gì từ trong bào thai cũng như thời kỳ sơ sinh, cho đến khi trẻ được 7 tháng tuổi trở đi mới có biểu hiện bệnh. Nếu trẻ không được phát hiện bệnh và điều trị thì đến khoảng 2 tuổi trẻ đã có biểu hiện nặng và chịu ảnh hưởng bởi các biến chứng của bệnh. Mục tiêu của chẩn đoán trước sinh bệnh β -thalassemia là chẩn đoán được kiểu gen biểu hiện bệnh thể nặng của thai từ nửa đầu của thai kỳ (trước 22 tuần), từ đó tư vấn cho thai phụ và gia đình hoặc ngừng thai

ngén, hoặc nếu để đẻ thì cho trẻ đi điều trị sớm ngay từ năm đầu đời để giảm biến chứng của bệnh.

Theo quy luật di truyền, khi cả bố và mẹ đều mang gen bệnh thì có nguy cơ sinh con bị bệnh β -thalassemia thể nặng. Những người bị bệnh β -thalassemia thể nặng hoặc thể trung gian thì sẽ được các bác sĩ chuyên khoa huyết học tư vấn trước về nguy cơ sinh con bị bệnh và có thể họ chủ động đi làm chẩn đoán trước sinh cho thai. Những người mang gen β -thalassemia dị hợp tử có thể không biết mình mang gen vì không có biểu hiện lâm sàng hoặc có biểu hiện nhẹ mà không được chẩn đoán, nhưng hai vợ chồng cùng mang gen bệnh thì có nguy cơ sinh con bị bệnh thể nặng. Trường hợp người bị bệnh HbE không có biểu hiện lâm sàng nhưng khi kết hợp với người mang gen β -thalassemia thì có thể sinh con bị bệnh HbE/ β -thalassemia có biểu hiện lâm sàng giống bệnh β -thalassemia thể nặng. Do vậy, cần sàng lọc để tìm ra được những cặp vợ chồng có nguy cơ truyền gen bệnh cho con.

Người bệnh β -thalassemia các thể từ nhẹ đến nặng đều có biểu hiện hồng cầu nhỏ ($MCV < 80\text{fL}$), nhược sắc ($MCH < 28\text{pg}$) và điện di huyết sắc tố có giảm HbA1, tăng HbA2, tăng HbF hoặc xuất hiện HbE nếu bị bệnh huyết sắc tố E. Dựa vào hai xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi và điện di huyết sắc tố có thể phát hiện ra được các cặp vợ chồng bị bệnh β -thalassemia. Từ đó tư vấn chẩn đoán trước sinh cho thai bằng cách chọc ối tìm đột biến gen bệnh β -thalassemia cho thai.

Thời điểm sàng lọc tốt nhất là trước khi mang thai hoặc trong khi có thai 3 tháng đầu. Các thai phụ được xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi, nếu có hồng cầu nhỏ ($MCV < 80\text{fL}$), nhược sắc ($MCH < 28\text{pg}$) thì xét nghiệm điện di huyết sắc tố và sàng lọc tiếp chồng cũng bằng xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi và điện di huyết sắc tố. Nếu cả hai vợ chồng bị

bệnh β -thalassemia và/hoặc bệnh huyết sắc tố E thì được tư vấn chẩn đoán trước sinh tìm đột biến gen cho thai.

Thực tiễn còn có những người bệnh mang cả gen bệnh α -thalassemia phối hợp với β -thalassemia và HbE nên sàng lọc khó khăn. Để chẩn đoán chính xác cần làm xét nghiệm đột biến gen cả α -thalassemia và β -thalassemia thì chi phí đắt hơn gấp đôi so với chỉ làm đột biến gen α -thalassemia hoặc β -thalassemia.

1.4. Chẩn đoán

1.4.1. Chẩn đoán xác định

- Tiền sử: gia đình có người bị bệnh thalassemia.
- Triệu chứng lâm sàng: thiếu máu, vàng da, lách to, biến dạng xương, xạm da,...

- Triệu chứng cận lâm sàng:

- + Tổng phân tích tế bào máu ngoại vi: thiếu máu (Hb giảm), hồng cầu nhỏ (MCV giảm), hồng cầu nhược sắc (MCH giảm), kích thước hồng cầu không đều (RDW tăng), hồng cầu non ra máu ngoại vi, số lượng hồng cầu lưới tăng.

- + Sinh hóa: Bilirubin toàn phần tăng, Bilirubin gián tiếp tăng, sắt huyết thanh tăng, ferritin tăng,...

- + Điện di huyết sắc tố: có và/hoặc tăng tỷ lệ huyết sắc tố bất thường: HbA₂, HbF, HbE, HbH, HbBart's, HbCs, HbQs, HbS, HbC,...

Trong bệnh β -thalassemia: tăng HbF và HbA₂.

Trong bệnh α -thalassemia: xuất hiện HbH, Hb Bart's, HbCs, HbQs.

Trong bệnh do đột biến chất lượng chuỗi globin: xuất hiện HbE, HbC, HbS.

- + Sức bền hồng cầu tăng.

+ Di truyền phân tử: các xét nghiệm di truyền học phân tử như Multiplex PCR, giải trình tự gen, ... để phân tích các đột biến gen trên các gen α và β globin.

1.4.2. Chẩn đoán mức độ bệnh

Trong thực hành lâm sàng, mức độ bệnh thalassemia được chia làm hai loại là loại phụ thuộc truyền máu và loại không phụ thuộc truyền máu (theo hướng dẫn của Liên đoàn Thalassemia thế giới), dựa vào sáu tiêu chuẩn sau:

- 1) Triệu chứng thiếu máu xuất hiện sớm trước 2 tuổi.
- 2) Thiếu máu ảnh hưởng đến hoạt động bình thường hàng ngày.
- 3) Nồng độ huyết sắc tố dưới 70g/l (HGB<70g/l).
- 4) Gan, lách to nhiều trên 5cm so với bình thường.
- 5) Chậm phát triển về thể chất hoặc dậy thì muộn.
- 6) Thường xuyên bị nhiễm trùng.

a) Nhóm thalassemia không phụ thuộc truyền máu: khi có ít hơn 4 trong 6 tiêu chuẩn trên, bao gồm các mức độ:

- Thể ẩn: không có biểu hiện lâm sàng, xét nghiệm có thể thấy hồng cầu nhỏ, xét nghiệm gen có thể thấy đột biến; không phải điều trị.
- Thể nhẹ: rất ít triệu chứng, phát hiện tình cờ khi có bệnh khác phối hợp như có thai, sốt cao,... những trường hợp này cân nhắc điều trị.
- Thể trung bình: có một hoặc nhiều các triệu chứng như trên, có thể phải truyền máu từng giai đoạn.

b) Nhóm thalassemia phụ thuộc truyền máu: khi có nhiều hơn 4 triệu chứng trong 6 triệu chứng trên, bao gồm các mức độ:

- Nặng: có nhiều triệu chứng lâm sàng, diễn ra liên tục, biểu hiện sớm ngay từ khi trẻ còn nhỏ, phụ thuộc vào truyền máu và thải sắt.
- Rất nặng: phù thai làm cho thai chết trong tử cung hoặc trẻ tử vong ngay sau sinh.

Cần chẩn đoán phân biệt thalassemia mức độ nhẹ với thiếu máu thiếu sắt hoặc thiếu máu mãn tính.

1.5. Điều trị

1.5.1. Nguyên tắc điều trị

Điều trị chính cho người bệnh thalassemia là truyền máu và thải sắt.

Nhóm thalassemia không phụ thuộc truyền máu: thể nhẹ không cần điều trị, thể trung bình phải truyền máu khi HGB dưới 90g/l.

Nhóm thalassemia phụ thuộc truyền máu: truyền khối hồng cầu định kỳ và thải sắt, đảm bảo duy trì HGB trên 90g/l.

1.5.2. Truyền máu

Truyền máu đều đặn suốt đời đóng vai trò trọng tâm trong điều trị bệnh thalassemia đặc biệt cho người bệnh thalassemia thể nặng. Chế phẩm máu được truyền cho người bệnh thalassemia là hồng cầu khối, không truyền máu toàn phần vì người bệnh thalassemia bị thiếu hồng cầu.

Người bệnh thalassemia có chỉ định truyền máu lần đầu khi:

- Nồng độ HBG < 70g/l ở 2 lần làm cách nhau > 2 tuần (để loại trừ tất cả nguyên nhân khác như nhiễm trùng).
- Nồng độ HBG > 70g/l nhưng người bệnh có biểu hiện biến chứng của bệnh thalassemia do thiếu máu nặng như: biến dạng xương mặt, chậm phát triển, gãy xương, có sự tạo máu ngoài tủy.

Tuân thủ nguyên tắc an toàn truyền máu để giảm các tai biến và nguy cơ của truyền máu. Chế độ truyền máu, thể tích máu truyền, khoảng cách giữa các lần truyền máu do bác sĩ chuyên khoa huyết học chỉ định. Khuyến cáo truyền máu cho người bệnh thalassemia thể nặng là truyền máu thường xuyên và suốt đời, truyền mỗi 2 đến 5 tuần để duy trì mức hemoglobin 90-105 g/l.

Các phản ứng phụ do truyền máu có thể gặp:

- Sốt sau truyền máu không do tan máu.

- Phản ứng dị ứng.
- Phản ứng tan máu cấp.
- Phản ứng chậm sau truyền máu.
- Thiếu máu tan máu tự miễn.
- Tổn thương phổi cấp do truyền máu.
- Bệnh mảnh ghép chống ký chủ do truyền máu: đây là biến chứng hiếm gặp nhưng có thể gây tử vong.
- Quá tải tuần hoàn do truyền máu.
- Lây truyền các tác nhân nhiễm trùng [1],[35].

1.5.3. *Thải sắt*

Người bệnh thalassemia thể nặng dư thừa sắt trong cơ thể, nguyên nhân chủ yếu do truyền máu (ở người bệnh thalassemia thể nặng) và một phần qua việc tăng cường tái hấp thu sắt từ ruột (ở người bệnh thalassemia thể trung gian và nặng không được truyền máu, tủy xương tăng tạo hồng cầu, ruột tăng tái hấp thu sắt ở mức 2-5g/năm so với 0,0015g/năm ở người bình thường). Trung bình mỗi đơn vị hồng cầu khối chứa khoảng 200-290mg sắt, dẫn đến tích tụ sắt trong cơ thể người bệnh bị truyền máu trong một thời gian dài. Sự dư thừa sắt này sẽ làm tích tụ sắt ở các cơ quan trong cơ thể gây tổn thương các cơ quan ấy, đặc biệt là tim, gan gây hậu quả xơ gan, suy tim. Cơ thể không có cơ chế thải một lượng sắt dư thừa quá mức do đó người bệnh thalassemia phải được dùng các thuốc thải sắt. Đây là biện pháp điều trị cần thiết và quan trọng thứ hai sau truyền máu ở người bệnh thalassemia. Theo dõi tình trạng dư thừa sắt bằng xét nghiệm ferritin huyết thanh.

Thuốc thải sắt đường truyền tĩnh mạch là Desferrioxamine (DFO) được dùng cho người bệnh từ những năm 1970 cho thấy rất hiệu quả và ít tác dụng phụ. Hiệu quả thải sắt của DFO phụ thuộc vào đường dùng DFO (truyền dưới da, truyền tĩnh mạch, tiêm bắp, uống), lượng sắt tích tụ trong cơ thể, nồng độ

vitamin C trong cơ thể và việc tuân thủ điều trị thải sắt của người bệnh. Vitamin C giúp sắt chuyển từ dạng sắt 3 (Fe^{3+}) sang dạng sắt 2 (Fe^{2+}) - là dạng dễ gắn kết với DFO hơn [36].

Tác dụng phụ của thuốc DFO: dị ứng, nhiễm trùng.

Với phụ nữ có thai: Không dùng DFO cho người mang thai 3 tháng đầu, có thể dùng cho người mang thai quý 2 và quý 3.

Ngày nay có một số thuốc thải sắt đường uống như Deferiprone, Desferasirox,...

1.5.4. Cắt lách

- Chỉ định khi có một trong ba dấu hiệu sau:

+ Nhu cầu truyền máu tăng: tăng hơn 50% so với ban đầu trong 6 tháng hoặc lượng máu truyền trong năm tăng quá 200-220ml/kg/năm.

+ Lách to quá gây đau.

+ Giảm bạch cầu hoặc giảm tiểu cầu nặng do cường lách.

- Biến chứng sau cắt lách:

+ Sốt: huyết khối do tăng số lượng tiểu cầu và người bệnh có xu hướng tăng đông máu.

+ Muộn: nguy cơ nhiễm trùng cao hơn người bình thường.

- Hạn chế biến chứng:

+ Không cắt lách cho trẻ dưới 5 tuổi.

+ Dự phòng nhiễm trùng bằng tiêm vaccin và kháng sinh dự phòng.

+ Có thể dùng thuốc chống đông Aspirin 80mg/ngày cho người bệnh có tiền sử huyết khối hoặc xét nghiệm có tiểu cầu tăng cao.

1.5.5. Điều trị khác

1.5.5.1. Ghép tế bào gốc tạo máu

Bệnh thalassemia có thể điều trị triệt để bằng cách ghép tế bào gốc tạo máu đồng loại (HSCT: hematopoietic stem cell transplantation) bao gồm việc ghép tủy xương (BMT: bone marrow transplantation).

Chỉ định ghép tế bào gốc: Thalassemia thể nặng, dưới 16 tuổi, chưa có quá tải sắt mức độ nặng và có người cho tế bào gốc phù hợp HLA.

Phương pháp này là một phương pháp điều trị rất tốn kém, đòi hỏi người bệnh có thể trạng tốt và có sự tương hợp trong hệ thống kháng nguyên bạch cầu người (HLA: human leucocyte antigen) với người cho tế bào- đây là một khó khăn rất lớn [37]. Nguồn người cho tế bào gốc phù hợp HLA hạn chế vì người bệnh có anh chị em ruột phù hợp HLA là rất thấp. Nếu dùng tế bào gốc của người cho không cùng huyết thống nhưng phù hợp HLA để ghép thì tỷ lệ biến chứng thường cao hơn so với ghép tế bào gốc từ người cho là anh chị em ruột.

1.5.5.2. Liệu pháp gen

Liệu pháp gen đã được nghiên cứu từ năm 1987. Người ta gắn yếu tố điều hòa gen tổng hợp chuỗi β - globin gọi là LCR (locus control region) vào gen HBB trên ADN của tế bào nguồn thì có thể sản xuất ra chuỗi β - globin. Các tế bào khiếm khuyết về di truyền của người bệnh được lấy ra khỏi cơ thể và các gen đột biến được sửa chữa bên ngoài cơ thể, sau đó các tế bào đã được thay đổi về di truyền này được đưa trở lại vào mô tạo máu (tủy xương) của người bệnh β - thalassemia để chúng có thể sản xuất hồng cầu có hemoglobin bình thường (HbA). Liệu pháp gen vẫn còn trong giai đoạn nghiên cứu, nếu thành công thì người bệnh không phụ thuộc vào việc tìm kiếm người tương hợp kháng nguyên bạch cầu người [38],[39].

Ngày nay, với sự tiến bộ của chẩn đoán sớm trước sinh, truyền máu cho thai trong tử cung và chăm sóc trẻ sau sinh, một số lượng nhỏ người bị phù thai có thể sống sót. Sự hiểu biết sâu sắc về cơ chế chuyển đổi từ gen ζ - sang

gen α -globin đã mở ra một cơ hội điều trị bằng cách tổng hợp globin phôi thai cho những cá thể này [28].

1.5.5.3. Thụ tinh trong ống nghiệm với những phôi không bị mang gen thalassemia nhờ chẩn đoán di truyền trước làm tổ (PGD: pre-implantation genetic diagnosis)

Một giải pháp cho việc tìm kiếm người cho có sự tương hợp kháng nguyên bạch cầu người là bố mẹ trẻ bị mắc bệnh thalassemia đẻ một con tương hợp hoàn toàn với anh chị bằng sự hỗ trợ của khoa học. Người mẹ cần được làm thụ tinh trong ống nghiệm, phôi trước khi được chuyển vào buồng tử cung được sinh thiết chẩn đoán để chắc chắn không bị thalassemia và có sự tương hợp kháng nguyên bạch cầu với anh chị bị bệnh. Những trẻ này khi được sinh ra sẽ được lấy máu cuống rốn để ghép cho anh chị bị bệnh [24].

1.5.5.4. Điều trị biến chứng và điều trị hỗ trợ

- Điều trị các biến chứng nội tiết.
- Điều trị loãng xương: bổ sung vitamin D và Calci, biphosphonate.
- Điều trị các biến chứng khác.
- Hỗ trợ: Erythropoietin, acid folic, chất chống oxy hóa, dinh dưỡng.
- Chế độ ăn uống: tránh quá tải sắt; ăn chế độ giàu dinh dưỡng, nhiều rau quả tươi để bổ sung vitamin và khoáng chất.

1.6. Ảnh hưởng của bệnh Thalassemia và quá trình mang thai

Người bệnh thalassemia thể nặng khi mang thai sẽ có nguy cơ cao cho mẹ và thai: nguy cơ cần truyền máu, nguy cơ do ứ sắt, nguy cơ tắc mạch đặc biệt ở những người bệnh đã cắt lách và có kháng thể tự miễn. Người bệnh thalassemia có thai cần được chăm sóc bởi bác sĩ huyết học và bác sĩ sản khoa.

Có người bệnh tự có thai, tuy nhiên nhiều người không tự có thai được do suy tuyến sinh dục hậu quả của ứ sắt, cần được hỗ trợ sinh sản.

1.6.1. Ảnh hưởng của bệnh *Thalassemia* đối với thai nghén

Suy giảm chức năng vùng dưới đồi là biến chứng nội tiết hay gặp nhất đối với bệnh nhân β -thalassemia phải truyền máu có biểu hiện bệnh ứ sắt có khuynh hướng dậy thì muộn, rối loạn chức năng tinh dục, vô sinh và chậm phát triển thể chất [40], sự tích lũy sắt ở thùy trước tuyến yên dẫn tới giảm chế tiết hormon tăng trưởng và hormon vùng dưới đồi [41], sự tích lũy sắt ở buồng trứng và tinh hoàn làm ảnh hưởng đến khả năng sinh sản [42].

Những phụ nữ bị thalassemia thể nặng không có thai tự nhiên có thể được kích thích phóng noãn để điều trị có thai, quản lý thai nghén tốt cùng với điều trị truyền máu và thải sắt giúp cho họ có được quá trình có thai và sinh đẻ thành công không biến chứng sản khoa [43].

Các nguy cơ của thai nghén như sảy thai, thai lưu, thai dị tật, tiền sản giật tương tự những trường hợp có thai không bệnh lý thalassemia tuy nhiên nguy cơ đẻ non và thai chậm phát triển trong tử cung tăng gấp hai lần ở những người thalassemia. Người phụ nữ bị β -thalassemia thể nhẹ khi có thai sẽ tăng nguy cơ sinh con nhẹ cân nhưng không tăng nguy cơ thai nghén về phía mẹ [44]. Nghiên cứu của Traisrisilp K và cộng sự [45] so sánh nhóm phụ nữ bị bệnh α -thalassemia thể nhẹ và nhóm bình thường khi có thai cho thấy không có sự khác biệt đáng kể về các nhóm bệnh như cao huyết áp trong khi mang thai, tỷ lệ thai lưu, đẻ non và con sinh ra có điểm apgar thấp, tuy nhiên nhóm bệnh α -thalassemia thể nhẹ có tỷ lệ sinh con nhẹ cân cao hơn nhóm bình thường.

Người bệnh thalassemia thể nặng khi mang thai sẽ có nguy cơ cao cho mẹ và thai: thiếu máu trầm trọng nguy cơ tăng tần số truyền máu để duy trì nồng độ hemoglobin $> 10\text{g/dl}$, tăng nguy cơ do ứ sắt, nguy cơ tắc mạch đặc biệt ở những người bệnh đã cắt lách và có kháng thể tự miễn. Tăng tỷ lệ mổ lấy thai ở người bệnh thalassemia.

Những trường hợp do bố và mẹ bị bệnh α -thalassemia gây nên phù thai liên tiếp làm ảnh hưởng nặng nề tới sức khỏe và tâm lý của người mẹ khi có thai và khi sinh con.

1.6.2. Ảnh hưởng của thai nghén đối với bệnh thalassemia

Thai nghén không làm thay đổi diễn biến tự nhiên của bệnh thalassemia [46].

Do thalassemia là bệnh di truyền gen lặn trên nhiễm sắc thể thường nên con sinh ra cần được kiểm tra sức khỏe để xác định xem có bị bệnh thalassemia không và bị ở mức độ nào để được điều trị sớm, giảm các biến chứng của bệnh ở trẻ. Tư vấn tiền hôn nhân và khám, chẩn đoán trước sinh cho thai có ý nghĩa quan trọng để chẩn đoán bệnh sớm cho thai.

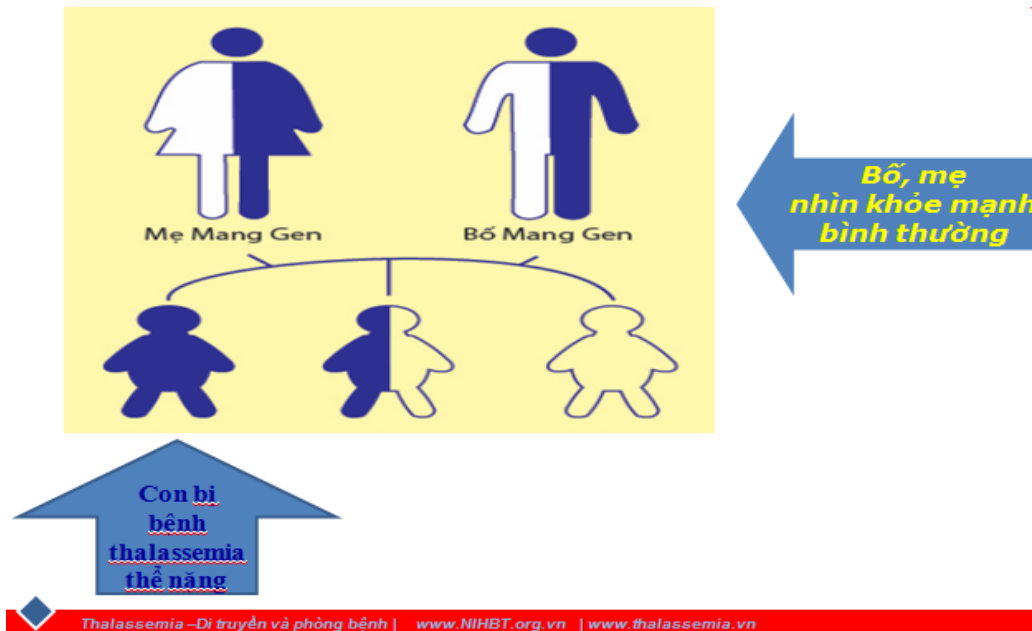
Vì vậy người bệnh thalassemia khi có thai cần được quản lý thai nghén định kỳ chặt chẽ, phối hợp giữa bác sĩ sản khoa và bác sĩ huyết học ở các thể bệnh trung bình và nặng để giúp giảm những tai biến cho mẹ và con.

1.7. Sàng lọc và chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia

1.7.1. Tại sao phải sàng lọc và chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia

Ngày nay, người dân đã nhận thức rõ được vai trò quan trọng của việc khám thai và quản lý thai nghén nên phụ nữ có thai đi khám thai khá đầy đủ. Một số ít người bị bệnh thalassemia hoặc gia đình có người bị bệnh đi khám thai sẽ cung cấp thông tin về bệnh tật để được chẩn đoán cho thai. Đa số phụ nữ có thai đến với các bác sĩ sản khoa được khám lâm sàng không có biểu hiện bệnh thalassemia và khai thác thông tin về người chồng là khỏe mạnh. Nhưng theo cơ chế di truyền, nếu cả hai vợ chồng mang gen bệnh thì có biểu hiện lâm sàng bình thường nhưng có khả năng sinh con mắc bệnh thalassemia thể nặng là 25% trong mỗi lần sinh. Việc sàng lọc ra những người có nguy cơ mang gen bệnh thalassemia rất đơn giản bằng xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi. Nếu cặp vợ chồng có nguy cơ mang gen bệnh thì cần chẩn

đoán sớm cho thai xem có mắc bệnh thalassemia thể nặng không, nhằm giúp ngừng thai nghén sớm, giúp giảm sinh ra những trẻ mắc bệnh thalassemia thể nặng.



Hình 1.8. Sơ đồ cơ chế di truyền bệnh thalassemia

1.7.2. Mục đích

Mục đích của sàng lọc và chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia là nhằm chẩn đoán được kiểu gen của thai ở tuần thai sớm nhất có thể. Quy trình chẩn đoán trước sinh bao gồm các bước: 1) Sàng lọc sớm để phát hiện các cặp vợ chồng có nguy cơ sinh con mắc bệnh thalassemia, 2) xác định đột biến gây bệnh của các cặp vợ chồng này, 3) Lấy được các chất liệu di truyền từ thai nhi một cách an toàn và nhanh nhất để chẩn đoán, 4) Xác định kiểu gen của thai bằng phân tích ADN thai dựa trên kiểu đột biến của bố và mẹ [47].

1.7.3. Đối tượng sàng lọc và chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia

- Sàng lọc cho tất cả phụ nữ chuẩn bị mang thai hoặc đang mang thai.
- Chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia cho thai trong hai trường hợp:
 - + Gia đình có người bị thalassemia: vợ, chồng, hoặc có con đã được xác định mang gen bệnh thalassemia.

+ Cặp vợ chồng có nguy cơ cao sinh con mắc bệnh thalassemia sau sàng lọc.

1.7.4. Siêu âm thai

Chỉ duy nhất một hình thái lâm sàng bệnh thalassemia có thể thăm dò trước sinh bằng siêu âm đó là bệnh Hb Bart's với biểu hiện lâm sàng là phù thai. Nghĩ đến phù thai khi có ít nhất 2 trong 4 dấu hiệu trên siêu âm sau: Tràn dịch ổ bụng, tràn dịch màng phổi, tràn dịch màng ngoài tim, phù da và tổ chức dưới da. Có thể kèm theo hay không kèm theo phù bánh rau.

1.7.5. Các phương pháp lấy bệnh phẩm của thai

1.7.5.1. Chọc ối

Phương pháp chọc ối (hay chọc hút nước ối) là phương pháp được sử dụng rộng rãi nhất hiện nay trên thế giới bởi tính chất đơn giản về kỹ thuật cũng như tỉ lệ tai biến thấp. Nó được coi là phương pháp chính để lấy bệnh phẩm thai nhi. Chọc ối nhằm mục đích vừa là để lấy các tế bào của thai nhi có trong nước ối để phân tích các vấn đề liên quan đến di truyền như các bất thường về nhiễm sắc thể, các bất thường về gen[48],[49], vừa là để phân tích, kiểm tra sự có mặt của một số các yếu tố được em bé bài tiết vào nước ối, nhất là trong trường hợp nhiễm một số loại Virus như Rubella, CMV, v.v...[50],[51].

Thủ thuật chọc ối được thực hiện bằng cách cho một kim dài qua thành bụng và thành tử cung để vào xoang ối. Số tế bào thai trong nước ối tăng dần theo tuổi thai nhưng khả năng sống sót của tế bào qua nuôi cấy thì ngược lại giảm dần theo tuổi thai. Do đó, thời điểm của thủ thuật phải được chọn lựa sao cho có được một số lượng phù hợp tế bào thai có khả năng sống sót cao với một số lượng nước ối bị lấy đi vừa phải và không làm ảnh hưởng đến sự phát triển của thai kỳ. Thủ thuật được tiến hành dưới hướng dẫn của siêu âm.

Chọc ối được làm vào 3 thời điểm: chọc ối sớm (ở tuổi thai 13 đến 16 tuần), chọc ối kinh điển (ở tuổi thai từ 17 đến 20 tuần), chọc ối muộn (sau 20 tuần). Tuổi thai tốt nhất để thực hiện thủ thuật này là 17 đến 18 tuần vì lúc này khả năng lấy nước ối thành công cao nhất, số tế bào thai trong nước ối có thể đạt 100.000/ml với khả năng >10 tế bào/ml sống sót được qua nuôi cấy, tỉ lệ biến chứng cho cả mẹ và thai thấp nhất [52].

Tai biến của phương pháp là chấn thương cho mẹ (nhiễm trùng, chảy máu, phản ứng tự miễn trong bất đồng miễn dịch) hay tai biến cho thai (sảy thai, biến dạng chi do thay đổi lượng nước ối hay viêm nhiễm buồng ối).

1.7.5.2. Sinh thiết gai rau

Sinh thiết gai rau là nhằm lấy các tế bào của thai ở các gai rau để kiểm tra về các vấn đề di truyền. Thủ thuật có thể được thực hiện từ 10 tuần vô kinh, mẫu nhau thai cho phép làm được xét nghiệm tế bào học, nhiễm sắc thể, sinh hoá hoặc vi trùng học. Có thể thực hiện sinh thiết nhau qua đường bụng hay qua đường âm đạo [53]. Chỉ định chủ yếu cho các trường hợp thai nhi có những bất thường lớn phát hiện sớm trong các quý đầu của thai nghén.

Tai biến của phương pháp là chấn thương cho mẹ (nhiễm trùng, chảy máu, ...) hay chấn thương cho thai (sảy thai, dị tật thai). Phương pháp này có tỉ lệ sảy thai khá cao (khoảng 9%) cho nên chỉ định sử dụng rất hạn chế. Tai biến cho thai so sánh giữa sinh thiết nhau và chọc dò ối khác biệt theo nhiều nguồn số liệu và nghiên cứu khác nhau. Một số cho rằng sinh thiết nhau ít gây sảy thai hơn và một số khác thì có ý kiến ngược lại [54].

1.7.5.3. Lấy máu cuống rốn

Thủ thuật được thực hiện từ 18-20 tuần vô kinh cho đến kết thúc thai kỳ với mục đích chẩn đoán, đồng thời còn dùng trong điều trị (truyền máu trong tử cung).

Tai biến của phương pháp là chấn thương cho mẹ (nhiễm trùng, chảy máu, ...) hay cho thai (thai lưu, chảy máu hay huyết tụ cuồng rôn, sanh non, chậm phát triển trong tử cung).

1.7.6. Chẩn đoán di truyền trước làm tổ

Chẩn đoán di truyền trước làm tổ (Preimplantation Genetic Diagnosis-PGD) là phương pháp chẩn đoán phôi bất thường về mặt di truyền được thực hiện trước khi cấy phôi vào trong buồng tử cung của người mẹ. Thụ tinh trong ống nghiệm với những phôi không bị mang gen thalassemia nhờ Chẩn đoán di truyền trước làm tổ là phương pháp dự phòng hiệu quả cao cho các bệnh di truyền như bệnh thalassemia [55]. Người mẹ cần được làm thụ tinh trong ống nghiệm, phôi trước khi được chuyển vào buồng tử cung được sinh thiết chẩn đoán để chắc chắn không bị thalassemia và có sự tương hợp kháng nguyên bạch cầu với anh chị bị bệnh. Những trẻ này khi được sinh ra sẽ được lấy máu cuồng rôn để ghép cho anh chị bị bệnh [24].

Lĩnh vực chẩn đoán di truyền trước làm tổ rất khó do vật liệu di truyền dùng để chẩn đoán ít, chỉ từ 1 đến 2 tế bào phôi. Vật liệu di truyền ít làm khả năng thất bại trong nhân gen chẩn đoán rất cao. Hơn nữa các kỹ thuật chỉ được thực hiện một lần duy nhất không đánh giá được sự ổn định và không kết hợp được nhiều phương pháp chẩn đoán làm giảm độ chính xác. Vì vậy cần nhân toàn bộ gen của các mẫu phôi sinh thiết để có nguồn vật liệu di truyền nhiều để có thể áp dụng đồng thời nhiều phương pháp chẩn đoán khác nhau cũng như lặp lại một phương pháp chẩn đoán nhiều lần từ đó làm tăng tính ổn định và độ chính xác của chẩn đoán [56].

Chẩn đoán di truyền trước làm tổ là một quy trình nhiều bước phức tạp, chi phí cao, đòi hỏi sự phối hợp của các chuyên gia về hỗ trợ sinh sản, mô phôi học và di truyền [57].

1.7.7. Xét nghiệm di truyền học phân tử tìm đột biến gen thalassemia

Xét nghiệm di truyền có vai trò quan trọng trong việc chẩn đoán đột biến gây bệnh Thalassemia là một trong những bệnh đầu tiên được phân tích kỹ lưỡng ở mức độ phân tử và là mô hình để phát triển các kỹ thuật phân tích đột biến gen. Phần lớn các kỹ thuật chẩn đoán đều dựa trên PCR và sử dụng các cặp mồi hoặc mẫu dò đặc hiệu cho từng vùng/ đột biến điểm đã được xác định. Các đột biến khác như đột biến hiếm hoặc đột biến mới có thể được phát hiện bằng giải trình tự gen trực tiếp. Ngày nay có nhiều kỹ thuật xét nghiệm như ARMS-PCR, Gap-PCR, realtime-PCR, MLPA, microarray và giải trình tự gen trực tiếp. Ngoài ra còn một số kit test nhanh giúp sàng lọc ban đầu các đột biến ở bệnh thalassemia. Có nhiều phương pháp xét nghiệm.

1.7.7.1. Phương pháp lai ADN

Đây là kỹ thuật phối hợp multiplex-PCR và lai ADN để phát hiện cùng một lúc nhiều đột biến khác nhau. Với multiplex-PCR, các gen đột biến được tách dòng và khuếch đại. Sau đó các sản phẩm PCR này sẽ được lai với mẫu dò đặc hiệu đã được gắn sẵn trên màng (Strip Assay-nylon membrane). Phản ứng lai ADN sau đó được phát hiện bằng các cơ chất tạo màu. Kết quả lai ADN sẽ được đối chiếu với thang chuẩn để xác định loại đột biến và tình trạng đồng/ dị hợp tử ở các mẫu phân tích [58]. Xét nghiệm này rất có ý nghĩa trong việc sàng lọc ban đầu đối với người mang gen hoặc thai nhi. Xét nghiệm xác định đột biến Thalassemia phát hiện đồng thời 21 đột biến α -Thalassemia và 22 đột biến β -Thalassemia.

1.7.7.2. Phương pháp GAP-PCR

Phát hiện các mất đoạn lớn gây mất 1 gen hoặc 2 gen (5 đột biến: --SEA, --THAI, --FIL, $-\alpha 4.2$, $-\alpha 3.7$).

1.7.7.3. Phương pháp ARMS-PCR

Để tìm ra các đột biến điểm gây mất 1 gen α (2 loại đột biến điểm thường gặp là $-\alpha^{HbQs}$, $-\alpha^{HbCs}$).

1.7.7.4. Phương pháp Multiplex PCR (PCR đa môi)

Sử dụng kỹ thuật PCR phối hợp nhiều cặp môi có thể cùng lúc phát hiện nhiều đột biến điểm và tình trạng đồng/ dị hợp tử của các alen này trong một phản ứng [59], [60], [61]. Một số đột biến gây bệnh thalassemia có tần suất xuất hiện cao có thể được sàng lọc bằng phương pháp này, bao gồm:

Sáu đột biến gen α -globin: SEA[--/ $\alpha\alpha$]; THAI [--/ $\alpha\alpha$]; FIL [--/ $\alpha\alpha$]; α 3.7 [- α / $\alpha\alpha$]; α 4.2 [- α / $\alpha\alpha$]; HbCs [T→C].

Tám đột biến gen β -globin: Cd95 [+A]; Cd41/42 [-TTCT]; Cd17 [A→T]; IVS I-5 [G→C]; IVS I -1 [G→T]; Cd26 [G→A]; Cd71/72 [+A]; -28 [A→G].

1.7.7.5. Giải trình tự gen

Giải trình tự gen là phương pháp đọc toàn bộ trình tự của đoạn gen quan tâm, từ đó mọi thay đổi trong đoạn gen đó sẽ được xác định. Để xét nghiệm phát hiện đột biến gen globin, các cặp môi được thiết kế với mục tiêu phân lập được toàn bộ các gen α và/hoặc β globin. Sau khi giải trình tự trên máy, phần mềm máy tính sẽ ghép các đoạn đọc thành gen hoàn chỉnh và phân tích sự thay đổi trên các gen này. Kỹ thuật này thường được thực hiện cuối cùng sau khi các kỹ thuật khác không phát hiện được đột biến [62], [63], [57].

1.8. Các nghiên cứu về thalassemia và thai nghén ở Việt Nam và Thế giới

Nguyễn Khắc Hân Hoan và cộng sự đã nghiên cứu tầm soát và chẩn đoán trước sinh đột biến gen thalassemia từ 01/12/2007 đến 31/3/2010 tại bệnh viện Từ Dũ. Trong nghiên cứu này các thai phụ và chồng được tầm soát tình trạng mang gen bệnh thalassemia bằng xét nghiệm huyết đồ và loại trừ nguyên nhân thiếu sắt, các cặp dương tính được điện di Hb và thực hiện chẩn đoán trước sinh tìm đột biến gen cho vợ, chồng và thai. Có 26965 thai phụ tham gia tầm soát với 1058 trường hợp được khảo sát đột biến (gồm thai phụ,

chồng và thai). Kết quả phát hiện được đột biến alpha thalassemia chiếm 65,8%, có 21,4% thai mang kiểu gen thalassemia nặng; khả năng phát hiện bệnh của chỉ số $MCH < 28pg$ là 98,7% và $MCV < 80fl$ là 92,3% [64].

Một nghiên cứu của Bạch Khánh Hòa và Nguyễn Quốc Cường áp dụng kỹ thuật sinh học phân tử để tìm hiểu một số đột biến gây β -thalassemia ở người miền Bắc Việt Nam trên 46 người bệnh β -thalassemia, dùng kỹ thuật PCR multiplex để xác định những đột biến của chuỗi β -globin. ADN được tách từ máu toàn phần theo phương pháp Perchlorat sodium. Các mẫu ADN sau khi tách được tiến hành phản ứng PCR multiplex với các cặp mồi để phát hiện những đột biến hay gặp nhất ở khu vực Đông Nam Á và Nam Trung Quốc: FS 41/42 (-CTTT), codon 17 (A-T), FS 71/72 (A+), codon 29 (A-G), codon 28 (A-G), IVS II- 654(C-T). Kết quả là có 52,1% đột biến ở codon 17 (A-T) và 32,15% là đột biến FS 41/42 (-CTTT) [65].

Năm 2008, Dương Bá Trục và cộng sự nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật sàng lọc beta-thalassemia ở cộng đồng bằng xét nghiệm đo sức bền thẩm thấu hồng cầu và đo thể tích trung bình hồng cầu (MCV) trên 664 người dân tộc Thái và Giáy tại Lai Châu và Điện Biên. Phương pháp đo sức bền thẩm thấu hồng cầu dễ dàng thực hiện tại tuyến cơ sở, không cần trang bị máy móc gì; lấy 20 μ l máu cho vào dung dịch NaCl 0,35% và nhận định kết quả sau 5 phút. Đo thể tích trung bình hồng cầu bằng máy tự động tổng phân tích tế bào máu. Kết quả là kỹ thuật đo sức bền thẩm thấu hồng cầu có thể sàng lọc được 80% người mang gen β -thalassemia và 53% người mang gen HbE; kỹ thuật đo MVC có thể sàng lọc được tới 95% người mang gen β -thalassemia và 84% người mang gen HbE [66].

Ấn Độ là một quốc gia đa sắc tộc với dân số xấp xỉ 1,2 tỷ. Một nghiên cứu về tần số gen của bệnh beta thalassemia thể nhẹ (β TT) và bệnh huyết sắc tố khác tiến hành trên 11090 học sinh từ 11 đến 18 tuổi ở ba khu vực khác

nhau của Ấn Độ cho kết quả là nhóm mang gen β TT chiếm tỷ lệ là 4,05%, tỷ lệ sinh ra con thalassemia đồng hợp tử mỗi năm là 11.316 người - cao hơn các báo cáo trước đây. Những trường hợp này đòi hỏi các chương trình sàng lọc và các phương tiện chẩn đoán trước sinh cũng như tăng chương trình nhận thức và giáo dục để kiểm soát việc sinh ra những trẻ mang gen đồng hợp tử thalassemia. Do đó Ấn Độ cần thực hiện khẩn cấp các biện pháp kiểm soát bệnh thalassemia một cách phù hợp [67].

Trong thời gian từ 1998 đến 2011, Ching-Tien Peng và cộng sự nghiên cứu chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia và bệnh hemoglobin ở 1240 trường hợp thai nghén có nguy cơ cao bị phù thai alpha thalassemia và bị beta thalassemia nặng. Trong số 1240 trường hợp này có 87% được chọc ối, 10% sinh thiết gai rau và 3% lấy máu cuống rốn. Kết quả chẩn đoán trước sinh là: 21,5% thai bị thalassemia nặng (bao gồm phù thai alpha thalassemia, beta thalassemia nặng và Hb E/ β -thalassemia); 50,2% thalassemia nhẹ và 28,3% không bị thalassemia. Từ năm 1993, Bộ Y tế Đài Loan đã cho triển khai một chương trình sàng lọc phụ nữ có thai để kiểm soát sự lan tràn của thalassemia, kết quả là từ năm 2003 có 4 năm không có người mắc mới thalassemia là năm 2003, 2004, 2007 và 2008 [68].

Vidit Gupta và cộng sự nghiên cứu sàng lọc và chẩn đoán trước sinh tình trạng mang gen thalassemia ở phụ nữ có thai tại Ấn Độ. Nghiên cứu được tiến hành trên 1500 phụ nữ có thai được làm xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi. Sau đó làm xét nghiệm điện di Hemoglobin cho những phụ nữ có một trong các tiêu chuẩn: $MCV < 77\text{fL}$, hoặc $MCH < 27\text{pg}$, hoặc chỉ số Mentzer dưới 13, hoặc gia đình có tiền sử mắc bệnh thalassemia, hoặc thuộc chủng người có nguy cơ cao mắc bệnh như Bohris, Malis,... hoặc có tiền sử phải truyền máu, hoặc thiếu máu mãn tính không giải thích được. Những người có chỉ số $HbA2 > 3,5\%$ được xác định là bị β -thalassemia thể nhẹ.

Những người có kết quả xét nghiệm HbA2 ở ngưỡng 3,3-3,4% sẽ được sàng lọc đột biến gen bệnh β -thalassemia bằng kỹ thuật ARMS-PCR với bệnh phẩm của thai từ sinh thiết gai rau hoặc chọc ối. Kết quả là trong 1500 phụ nữ được sàng lọc có 450 người cần làm xét nghiệm điện di hemoglobin, có 88 người (5,9%) được chẩn đoán bị β -thalassemia thể nhẹ. Có 17 cặp vợ chồng thuộc nhóm nguy cơ cao cần chẩn đoán trước sinh cho thai, trong đó 13 trường hợp được chọc ối và 4 trường hợp sinh thiết gai rau. Kết quả là có 2 thai được chẩn đoán bị β -thalassemia thể nặng và được ngừng thai nghén, 11 thai bị β -thalassemia thể nhẹ và 4 thai không mang gen β -thalassemia [69].

Nghiên cứu của tác giả Olatunya O.S và cộng sự trên 100 trẻ em thiếu máu hồng cầu hình liềm có so sánh với nhóm đối chứng ở Nigeria được đăng trên tạp chí Journal Clin Lab Anal tháng 8 năm 2018 cho thấy trong số trẻ em thiếu máu hồng cầu hình liềm có 41% trẻ bị alpha thalassemia và ở những trẻ này có các chỉ số thể tích trung bình hồng cầu (MCV), huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCH) và số lượng bạch cầu (WBC) thấp hơn nhóm còn lại [70].

Một nghiên cứu thí điểm về chẩn đoán trước sinh không xâm lấn ở Trung Quốc của tác giả Wenjuan Wang và cộng sự được đăng báo năm 2017 cho thấy kết quả gen bệnh thalassemia của thai nhi được chẩn đoán bằng phương pháp không xâm lấn – phân tích DNA thai tự do trong máu mẹ giống hệt với kết quả chẩn đoán bằng phương pháp có xâm lấn – phân tích DNA của thai trong nước ối khi nghiên cứu trên hai gia đình có mắc bệnh thalassemia [71].

Chương 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành tại Bệnh viện Phụ Sản Trung Ương trong thời gian từ tháng 7 năm 2015 đến tháng 9 năm 2018

2.2. Đối tượng nghiên cứu

2.2.1. Nhóm đối tượng cho mục tiêu 1: Mô tả một số chỉ số huyết học của các thai phụ tham gia sàng lọc bệnh thalassemia

2.2.1.1. Tiêu chuẩn chọn lựa

- Phụ nữ đến khám thai và tư vấn trước sinh tại bệnh viện Phụ Sản Trung Ương.
- Tuổi thai: bất kỳ tuổi thai nào, càng sớm càng tốt sau khi chẩn đoán có thai.
- Có kết quả xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi.

2.2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ

- Đa thai.
- Thai lưu.
- Người bệnh đang trong tình trạng cấp cứu: ối vỡ, ra máu âm đạo, tiền sản giật,...

2.2.2. Nhóm đối tượng cho mục tiêu 2: phân tích kết quả chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia

2.2.2.1. Tiêu chuẩn chọn lựa

Dựa vào một trong ba tiêu chí sau.

- Gia đình có người bị thalassemia: vợ, chồng, hoặc có con đã được xác định mang gen bệnh thalassemia.

- Cặp vợ chồng có nguy cơ cao sinh con mắc bệnh thalassemia sau sàng lọc: cả hai vợ chồng có hồng cầu nhỏ hoặc nhược sắc.

- Tiền sử sinh con phù thai.

2.2.2.2. Tiêu chuẩn loại trừ

- Thai phụ không đồng ý chọc ối hoặc có chồng chỉ định chọc ối.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu này sử dụng phương pháp nghiên cứu mô tả cắt ngang hồi cứu kết hợp với tiền cứu.

2.3.2. Cỡ mẫu nghiên cứu và cách chọn mẫu

2.3.2.1. Cỡ mẫu

Cỡ mẫu tính theo công thức:

$$N = Z_{(1-\frac{\alpha}{2})}^2 \times \frac{p(1-p)}{(p \cdot \varepsilon)^2}$$

Trong đó:

N là cỡ mẫu nghiên cứu

α là sai lầm loại I. Với khoảng tin cậy là 95%, ta có $\alpha = 0,05$.

Như vậy $Z_{(1-\alpha/2)}$ là 1,96.

P là tỷ lệ phụ nữ có thai được chẩn đoán thalassemia tại bệnh viện Phụ Sản Trung Ương theo nghiên cứu năm 2013 có 201 phụ nữ có thai đến trung tâm Chẩn đoán trước sinh – bệnh viện Phụ Sản Trung Ương hội chẩn vì bị thalassemia trên tổng số người bệnh đến khám thai tại bệnh viện là khoảng 20000 người, ước tính $p = 1\%$.

ε là mức chính xác tương đối, lấy bằng 20%, sai số $E = p.\varepsilon = 0.002$

Thay vào công thức ta có:

$$N = 1,96^2 \times \frac{0,01.0,99}{(0,01 \times 0,2)^2} = 9507,96$$

Trong nghiên cứu này lấy cỡ mẫu là 9516.

2.3.2.2. Cách chọn mẫu

Chúng tôi áp dụng kỹ thuật chọn mẫu không xác suất, chọn mẫu thuận tiện: chọn tất cả phụ nữ đến khám thai và tư vấn trước sinh tại bệnh viện Phụ Sản Trung Ương có được làm xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi.

Mục tiêu 1:

- Thu thập thai phụ đến khám thai và tư vấn trước sinh từ tháng 10 năm 2016 đến tháng 9 năm 2018.

Mục tiêu 2:

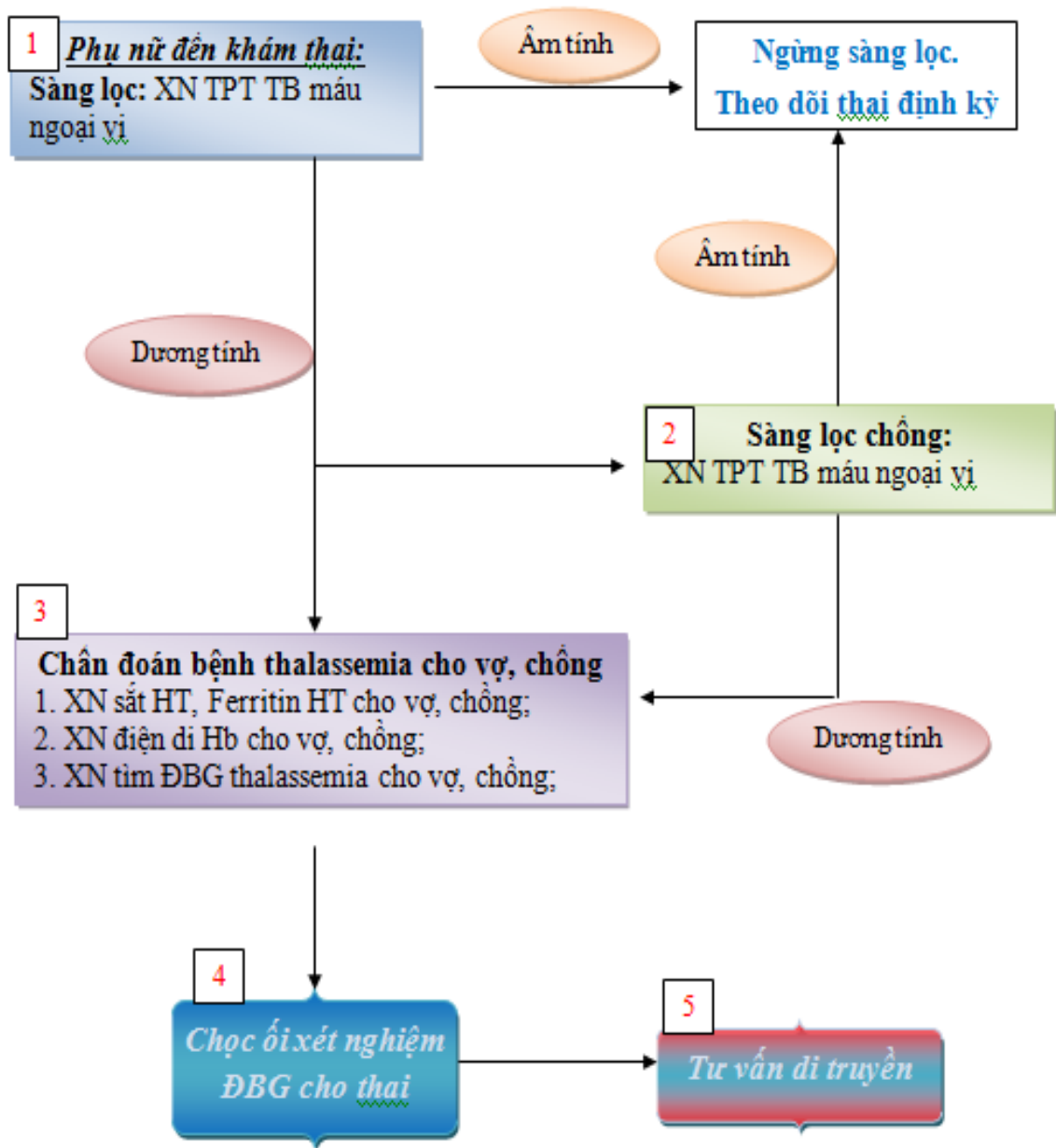
- Lấy số liệu hồi cứu từ tháng 9 năm 2016 trở về tháng 7 năm 2015 với những thai phụ được chọc ối để chẩn đoán đột biến gen thalassemia cho thai, tổng số được 3 mẫu.

- Lấy số liệu tiền cứu từ tháng 10 năm 2016 đến tháng 9 năm 2018 với những thai phụ được chọc ối để chẩn đoán đột biến gen thalassemia cho thai, tổng số được 120 mẫu.

2.3.3. Tiến trình nghiên cứu

2.3.3.1. Sơ đồ nghiên cứu

Người phụ nữ đến khám thai và tư vấn trước sinh tại bệnh viện Phụ Sản Trung Ương được sàng lọc thalassemia theo sơ đồ sau:



Hình 2.1: Sơ đồ nghiên cứu

2.3.3.2. Các bước tiến hành nghiên cứu

Bước 1: sàng lọc các thai phụ đến khám thai và tư vấn trước sinh bằng xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi.

➤ Sàng lọc **Âm tính**: nhận định kết quả là âm tính khi thể tích trung bình hồng cầu (MCV) và huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCH) trong giới hạn bình thường.

➤ Sàng lọc **Dương tính**: nhận định kết quả là dương tính khi thể tích trung bình hồng cầu giảm ($MCV < 80\text{fl}$) và/ hoặc huyết sắc tố trung bình hồng cầu giảm ($MCH < 28\text{pg}$).

➤ Nếu thai phụ sàng lọc âm tính thì tiếp tục khám thai định kỳ.

➤ Nếu thai phụ sàng lọc dương tính thì chuyển bước 2.

Bước 2: sàng lọc cho chồng bằng xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi khi kết quả sàng lọc của thai phụ là dương tính.

➤ Nếu kết quả sàng lọc cho chồng là âm tính thì ngừng sàng lọc, tiếp tục theo dõi thai định kỳ.

➤ Nếu kết quả sàng lọc cho chồng là dương tính thì chuyển bước 3.

Bước 3: chẩn đoán bệnh thalassemia cho thai phụ và chồng khi kết quả sàng lọc của hai vợ chồng là dương tính.

➤ Tư vấn làm xét nghiệm sắt huyết thanh và ferritin huyết thanh cho hai vợ chồng để đánh giá mức độ thiếu sắt, thừa sắt.

➤ Tư vấn làm xét nghiệm điện di huyết sắc tố cho hai vợ chồng để định hướng làm xét nghiệm đột biến gen.

➤ Chỉ định làm xét nghiệm di truyền tìm đột biến gen thalassemia cho hai vợ chồng.

Bước 4: chẩn đoán bệnh thalassemia cho thai bằng cách chọc ối làm xét nghiệm di truyền tìm đột biến gen thalassemia cho thai. Chỉ định chọc ối trong các trường hợp sau:

➤ Thai phụ hoặc chồng hoặc đã có con mang đột biến gen thalassemia.

➤ Tiền sử phù thai.

➤ Những trường hợp thai phụ có kết quả xét nghiệm có mang đột biến gen thalassemia mà không có sự tham gia xét nghiệm của chồng (như trường

hợp mẹ đơn thân, chồng đi xa, chồng không muốn làm xét nghiệm) vẫn chỉ định chọc ối chẩn đoán cho thai.

Bước 5: tư vấn di truyền theo kết quả xét nghiệm đột biến gen của thai.

2.3.3.3. Các xét nghiệm trong sơ đồ nghiên cứu: thực hiện tại bệnh viện Phụ Sản Trung Ương.

a) Tổng phân tích tế bào máu ngoại vi (XN TPT TB máu ngoại vi)

- Tiến hành kỹ thuật xét nghiệm: theo hướng dẫn quy trình kỹ thuật khám bệnh chữa bệnh chuyên ngành Huyết học-Truyền máu-Miễn dịch- Di truyền-Sinh học phân tử do Bộ Y tế ban hành.
- Phương tiện: máy đếm tế bào tự động.
- Thời điểm xét nghiệm: mọi thời điểm, không cần chuẩn bị gì đặc biệt.
- Lấy bệnh phẩm: lấy 2ml máu tĩnh mạch trực tiếp từ người được xét nghiệm, cho vào ống chống đông, lắc đều.

➤ **Bình thường:**

- ✓ Số lượng tế bào hồng cầu (RBC): 4.0-5.2 T/l.
- ✓ Huyết sắc tố (HGB): $\geq 110\text{g/l}$ (ở phụ nữ có thai).
- ✓ Thể tích trung bình hồng cầu (MCV): 80-100 fl.
- ✓ Huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCH): 28-32 pg.

b) Định lượng sắt huyết thanh và ferritin huyết thanh

- Tiến hành kỹ thuật xét nghiệm theo hướng dẫn quy trình kỹ thuật khám bệnh chữa bệnh chuyên ngành Hóa sinh do Bộ Y tế ban hành.
- Phương tiện: máy xét nghiệm AU 640, máy Cobas C501.
- Thời điểm xét nghiệm: mọi thời điểm, không cần chuẩn bị gì đặc biệt.

- Lấy bệnh phẩm: lấy 3ml máu tĩnh mạch trực tiếp từ người được xét nghiệm, cho vào ống không có chất chống đông hoặc ống có chất chống đông là Li, Na Heparin, K3-EDT, Sodium citrate. Máu không vỡ hồng cầu.
- Giá trị tham chiếu của Ferritin huyết thanh đối với nam là 30-400 $\mu\text{g/l}$ và đối với nữ là 13-150 $\mu\text{g/l}$.
- Giá trị tham chiếu bình thường khi định lượng sắt huyết thanh là 9-30.4 $\mu\text{mol/l}$.

c) Điện di huyết sắc tố: (Hemoglobin -Hb)

- Tiến hành kỹ thuật xét nghiệm: theo hướng dẫn quy trình kỹ thuật khám bệnh chữa bệnh chuyên ngành Huyết học-Truyền máu-Miễn dịch- Di truyền-Sinh học phân tử do Bộ Y tế ban hành.
- Phương tiện: máy điện di huyết sắc tố Minicap Flex piercing.
- Bệnh phẩm: 2 mL máu chống đông EDTA.

Bảng 2.1: Thành phần hemoglobin ở người bình thường theo các lứa tuổi [12]

Lứa tuổi	HbA ($\alpha 2\beta 2$) -%	HbA2($\alpha 2\delta 2$) -%	HbF ($\alpha 2\gamma 2$)- %
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	97	2,0-3,0	0,4-2,0
> 5 tuổi	97	2,0-3,0	0,4-2,0
Người trưởng thành	96-98	0,5-3,5	< 1

d) Xét nghiệm phát hiện đột biến gen gây bệnh thalassemia

- Tiến hành kỹ thuật xét nghiệm: theo Quy trình xét nghiệm phát hiện đột biến gen bằng kỹ thuật Multiplex PCR được Bộ Y tế ban hành trong hướng dẫn quy trình kỹ thuật khám bệnh chữa bệnh chuyên ngành Huyết học-Truyền máu-Miễn dịch- Di truyền- Sinh học phân tử.

- Phương tiện: máy nhân gene PCR, máy Vortex.

- Bệnh phẩm: 1ml máu tĩnh mạch có chống đông EDTA hoặc 2ml dịch ối hoặc cấy tế bào sau khi nuôi cấy tế bào ối.

Xét nghiệm xác định đột biến Thalassemia phát hiện đồng thời 21 đột biến α -Thalassemia và 22 đột biến β -Thalassemia:

Bảng 2.2: Hai mươi một đột biến α -thalassemia

3.7 (mất đoạn đơn)	anti-3.7 lặp đoạn (3x)	$\alpha 2$ cd 125 [CTG>CCG] (Hb Quang Sze)
4.2 (mất đoạn đơn)	$\alpha 1$ cd 14 [TGG>TAG]	$\alpha 2$ cd 142 [TAA>CAA] (HB Constant Spring)
MED (mất đoạn kép)	$\alpha 1$ cd 59 [GGC>GAC] (Hb Adana)	$\alpha 2$ cd 142 [TAA>AAA] (HB Icaria)
SEA (mất đoạn kép)	$\alpha 2$ init cd [ATG>ACG]	$\alpha 2$ cd 142 [TAA>TAT] (HB Pakse)
THAL (mất đoạn kép)	$\alpha 2$ cd 19 [-G]	$\alpha 2$ cd 142 [TAA>TCA] (Hb Koya Dora)
FIL (mất đoạn kép)	$\alpha 2$ IVS1 [-5nt]	$\alpha 2$ poly A-1 [AATAAA-AATAAG]
20.5 kb (mất đoạn kép)	$\alpha 2$ cd 59 [GGC>GAC]	$\alpha 2$ poly A-2 [AATAAA-AATGAA]

Bảng 2.3: Hai mươi hai đột biến β -thalassemia

-31 [A>G]	codon 19 [A>G] Malay	codon 71/72 [+A]
-29 [A>G]	codon 26 [G>A] HbE	codon 89/90 [-GT]
-28 [A>G]	codon 27/28 [+C]	codon 90 [G>T]
cap+1 [A>C]	IVS 1.1 [G>T]	codon 95 [+A]
mã khởi đầu [ATG>AGG]	IVS 1.5 [G>C]	IVS 2.1 [G>A]
codon 8/9 [+G]	codon 41/42 [TTCT]	IVS 2.654 [C>T]
codon 15 [TGG>TAG]	codon 43 [G>T]	codon 121 [G>T]
codon 17 [A>T]		

Kết quả xét nghiệm phát hiện đột biến gen gây bệnh thalassemia có giá trị vĩnh viễn với mỗi cá thể nên nếu thai phụ và chồng đã được xét nghiệm tại Viện Huyết học và Truyền máu Trung Ương và bệnh viện Nhi Trung Ương thì sử dụng luôn các kết quả đã có này.

e) Chọc ối

- Thủ thuật chọc ối được thực hiện bằng cách cho một kim dài qua thành bụng và thành tử cung để vào xoang ối. Số tế bào thai trong nước ối tăng dần theo tuổi thai nhưng khả năng sống sót của tế bào qua nuôi cấy thì ngược lại giảm dần theo tuổi thai. Do đó, thời điểm của thủ thuật phải được chọn lựa sao cho có được một số lượng phù hợp tế bào thai có khả năng sống sót cao với một số lượng nước ối bị lấy đi vừa phải và không làm ảnh hưởng đến sự phát triển của thai kỳ. Thủ thuật được tiến hành dưới hướng dẫn của siêu âm.

- Bệnh phẩm là 15ml dịch ối đựng trong ống vô trùng được chọc hút dưới hướng dẫn của siêu âm ở thời điểm thai từ 17 tuần, đạt chất lượng, không lẫn máu khi quan sát bằng mắt thường.

- Bệnh phẩm nước ối được tách chiết các ADN và chẩn đoán xác định người mang gen bệnh bằng xét nghiệm di truyền học phân tử tìm đột biến gen thalassemia.

2.3.3.4. Tư vấn di truyền

Sau khi có kết quả sàng lọc và chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia, hai vợ chồng người mang thai sẽ được tư vấn di truyền dựa trên kết quả phân tích đột biến gen của thai để lựa chọn quyết định giữ thai hay đình chỉ thai phù hợp với khoa học và hoàn cảnh gia đình.

Căn cứ trên kết quả phân tích gen đột biến của thai nhi sẽ có một trong ba tình huống sau xảy ra:

- Thai nhi mang các đột biến cho thấy sẽ biểu hiện thành bệnh thalassemia thể nặng. Có hai trường hợp.

+ Nếu thai mang kiểu gen bệnh alpha thalassemia thể nặng thì thai sẽ phù và chết trong tử cung hoặc sau sinh, nên tư vấn ngừng thai sớm trước khi diễn biến thêm phù rau thai và tiền sản giật.

+ Nếu thai mang kiểu gen bệnh beta thalassemia thể nặng thì khi sinh ra trẻ vẫn bình thường và sẽ có biểu hiện bệnh sớm trong năm đầu đời, gia đình nên đưa trẻ đi khám và điều trị theo chuyên khoa Huyết học sớm để giảm những biến chứng của bệnh cho trẻ. Có thể ngừng thai nghén nếu chẩn đoán trước sinh được từ tuổi thai còn nhỏ.

- Thai nhi mang gen bệnh thalassemia biểu hiện lâm sàng là thể trung bình hoặc nhẹ, hoặc thể ẩn: tư vấn tiếp tục theo dõi thai, cho con đi khám chuyên khoa huyết học định kỳ.

- Thai nhi không mang gen bệnh thalassemia: tư vấn lưu trữ máu cuống rốn ngay sau sinh để có thể dùng tế bào máu cuống rốn điều trị ghép tủy cho người thân bị bệnh thalassemia nếu phù hợp.

2.3.4. Các biến số và chỉ số nghiên cứu

- Tuổi của đối tượng nghiên cứu;
- Tuổi thai: khi làm xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi. Chia nhóm tuổi thai ở các khoảng: dưới 13 tuần tương đương với thai quý 1, 13-22 tuần tương đương với thai quý 2, thai quý 3 sẽ chia 3 nhóm là nhóm 23-28 tuần tương ứng với thai cực non tháng, nhóm 29-37 tuần tương ứng với thai non tháng và nhóm từ 38 tuần là thai đủ tháng;
- Dân tộc;
- Địa chỉ: lấy theo địa chỉ hộ khẩu mà người bệnh kê khai trong hồ sơ bệnh án;
- Số lượng hồng cầu (RBC): bình thường từ 4,0 đến 5,2 Giga/lit (G/l);
- Nồng độ huyết sắc tố (HGB): lấy trị số tuyệt đối từ xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi;
 - Có thiếu máu: $HGB < 110g/dL$
 - Không thiếu máu: $HGB \geq 110g/dL$
- Thể tích trung bình hồng cầu (MCV): lấy trị số tuyệt đối từ xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi;
 - Hồng cầu nhỏ: $MCV < 80fl$;
 - Hồng cầu bình thường: MCV trong khoảng 80-100 fl;
 - Hồng cầu to: $MCV > 100fl$;
- Huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCH): lấy trị số tuyệt đối từ xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi;
 - Hồng cầu nhược sắc: $MCH < 28pg$;

➤ Hồng cầu đẳng sắc: MCH trong khoảng 28-32pg;

➤ Hồng cầu ưu sắc: MCH > 32pg;

- Sắt huyết thanh và ferritin huyết thanh: lấy trị số tuyệt đối từ xét nghiệm sinh hóa;

➤ Thiếu sắt: sắt huyết thanh < 9 $\mu\text{mol/l}$

Và ferritin huyết thanh < 13 $\mu\text{g/l}$.

➤ Thừa sắt: sắt huyết thanh > 30.4 $\mu\text{mol/l}$

Và ferritin huyết thanh > 150 $\mu\text{g/l}$.

➤ Sắt bình thường: sắt huyết thanh = 9-30.4 $\mu\text{mol/l}$

Và/hoặc ferritin huyết thanh = 13-150 $\mu\text{g/l}$.

- Điện di huyết sắc tố

➤ Bình thường:

○ HbA: 96-98%

○ HbA2: 0.5-3.5%

○ HbF: < 1%

➤ Bất thường:

○ β thalassemia: HbF: tăng; HbA2: tăng; HbA: giảm

○ Bệnh huyết sắc tố E: xuất hiện HbE

○ Bệnh HbH: xuất hiện HbH, Hb Bart's

➤ Khác: xuất hiện các Hb khác như HbC,...

- Xét nghiệm đột biến gen: kết quả đột biến ghi trên phiếu xét nghiệm.

➤ **α thalassemia:**

❖ Kiểu gen:

- ✓ Đồng hợp tử SEA;
- ✓ Dị hợp tử SEA;
- ✓ Dị hợp tử THAI;
- ✓ Dị hợp tử $\alpha 3.7$;
- ✓ Dị hợp tử $\alpha 4.2$;
- ✓ Dị hợp tử Cs;
- ✓ Dị hợp tử kép: Phôi hợp các kiểu gen dị hợp tử;

❖ Kiểu hình:

- ✓ Thể nặng: Đột biến 4 gen (Đồng hợp tử SEA);
- ✓ Thể nhẹ: Đột biến 3 gen (Dị hợp tử SEA + $\alpha 3.7$ hoặc $\alpha 4.2$ hoặc Cs); Đột biến 1 đến 2 gen (Dị hợp tử SEA, $\alpha 3.7$ hoặc $\alpha 4.2$);

➤ **β thalassemia:**

❖ Kiểu gen:

- ✓ Đồng hợp tử CD17; CD 41/42; CD 71/72;
- ✓ Dị hợp tử CD17; CD 41/42; CD 71/72; -28; IVS-I;
- ✓ Dị hợp tử kép: Phôi hợp các kiểu gen dị hợp tử;

❖ Kiểu hình:

- ✓ Thể nặng: kiểu gen là đồng hợp tử hoặc dị hợp tử kép β^0/β^0 (CD41/42, CD71/72, CD17);
- ✓ Thể nhẹ: Dị hợp tử khác

➤ **Bệnh huyết sắc tố E:**

- ❖ Kiểu gen: đồng hợp tử hoặc dị hợp tử CD26
- ❖ Kiểu hình: bệnh huyết sắc tố E có biểu hiện kiểu hình bệnh β thalassemia thể nhẹ;

➤ **Phôi hợp:**

- ❖ Kiểu gen: phôi hợp các kiểu gen của bệnh α thalassemia, β thalassemia và bệnh huyết sắc tố E;
- ❖ Kiểu hình:
 - ✓ Thể nặng: phôi hợp nhiều kiểu gen trong đó có đồng hợp tử SEA, hoặc đồng hợp tử β^0 - thalassemia, hoặc dị hợp tử kép β^0 - thalassemia, hoặc dị hợp tử β^0 -thalassemia với HbE;
 - ✓ Thể nhẹ: phôi hợp nhiều kiểu gen không thuộc nhóm thể nặng;

- Siêu âm thai: theo kết quả siêu âm chẩn đoán cho thai phụ.

- ✓ Bình thường;
- ✓ Phù thai;
- ✓ Khác: thai có những bất thường hình thái không phải phù thai như giãn não thất, thoát vị hoành,...

- Tiền sử sản khoa:

- Con mang gen bệnh thalassemia: con đã được chẩn đoán mắc bệnh hoặc mang gen bệnh thalassemia;

- Phù thai: có ít nhất một lần được chẩn đoán phù thai hoặc con bụng cóc và chết ngay sau sinh, chưa được chẩn đoán gen thalassemia;
- Khác: các trường hợp không được chẩn đoán con mang gen bệnh thalassemia và phù thai;

2.3.5. Sai số và cách khắc phục sai số

Các sai số trong nghiên cứu này bao gồm:

- Sai số thu thập thông tin: Bỏ sót thông tin khi sao chép thông tin từ hồ sơ bệnh án. Bỏ sót đối tượng nhất là những đối tượng sản phụ không quay lại để đọc kết quả. Sản phụ không cung cấp các thông tin chính xác do các yếu tố mang tính tập quán hoặc tín ngưỡng.

Cách khắc phục: Kiểm tra lại phiếu thu thập thêm 1 lần để chắc chắn không bỏ sót thông tin.

- Sai số do nhập số liệu: lỗi do người nhập số liệu bỏ sót hoặc vào nhầm.

Cách khắc phục: làm sạch số liệu trước khi xử lý, chỉ những phiếu đầy đủ số liệu mới lấy vào nghiên cứu.

2.3.6. Phương pháp thu thập và xử lý số liệu

- Số liệu được ghi vào mẫu bệnh án nghiên cứu thống nhất.
- Số liệu được mã hóa và được nhập bằng phần mềm EPIDATA 3.1, sau đó được phân tích bằng phương pháp thống kê y học theo chương trình SPSS 16.0.
- Số liệu được trình bày, sắp xếp theo các biến số nghiên cứu đặt ra trong nội dung phương pháp nghiên cứu.
- Bảng tần số được sử dụng để mô tả các tỷ lệ trong quần thể nghiên cứu.

- Trung bình, độ lệch chuẩn được dùng để mô tả đặc điểm của đối tượng nghiên cứu.
- Test " χ^2 " dùng kiểm định sự khác biệt giữa 2 tỉ lệ hoặc 2 biến định tính.
- Test Fisher dùng kiểm định sự khác biệt giữa 2 tỉ lệ với tần số xuất hiện thấp (<8).
- “t-test” dùng kiểm định sự khác biệt giữa 2 giá trị trung bình của 2 biến định lượng.
- Khoảng tin cậy 95% được áp dụng cho toàn bộ các test. Kiểm định sự khác biệt với giá trị $p < 0,05$.

2.3.7. Đạo đức nghiên cứu.

- Nghiên cứu này tuân theo những nguyên tắc quy định của Hội đồng Đạo đức của Bộ Y tế về thực hành lâm sàng tốt (GCP) và các quy định pháp lý của Việt Nam. Nghiên cứu được tiến hành sau khi Hội đồng khoa học của cấp có thẩm quyền đã phê duyệt
- Thai phụ được thông báo, giải thích và tự nguyện tham gia nghiên cứu. Việc phỏng vấn bệnh nhân và làm xét nghiệm không ảnh hưởng đến sức khỏe bệnh nhân cũng như tình trạng bệnh.
- Can thiệp chọc ối để lấy bệnh phẩm làm xét nghiệm chẩn đoán di truyền bệnh thalassemia của thai là một thủ thuật xâm lấn, có những nguy cơ cần được tư vấn cho thai phụ và chỉ tiến hành khi thai phụ chấp nhận làm thủ thuật.
- Tất cả các thông tin cá nhân và bệnh tật của thai phụ được giữ bí mật.
- Thai phụ có thể ngừng tham gia nghiên cứu ở bất kỳ thời điểm nào trong khi nghiên cứu đang được thực hiện.

Chương 3

KẾT QUẢ

3.1. Một số chỉ số huyết học của các thai phụ tham gia sàng lọc bệnh thalassemia tại bệnh viện Phụ Sản Trung Ương

Trong thời gian từ tháng 10 năm 2016 đến tháng 9 năm 2018, nghiên cứu này thu thập được 9516 phụ nữ đến khám thai và tư vấn trước sinh tại bệnh viện Phụ Sản Trung Ương có được sàng lọc bệnh thalassemia bằng xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi.

3.1.1. Tuổi của phụ nữ có thai được sàng lọc bệnh thalassemia

Bảng 3.1: Phân bố tuổi của đối tượng nghiên cứu

Độ tuổi	Số lượng	Tỷ lệ %
< 25	1056	11,1
25-29	3686	38,7
30-34	2732	28,7
≥ 35	2042	21,5
Tổng số	9516	100,0
Trung bình (tuổi)	$30,4 \pm 5,3$	
Min – Max (tuổi)	16-52	

Tuổi trung bình của đối tượng nghiên cứu là $30,4 \pm 5,3$ tuổi. Người nhỏ tuổi nhất là 16 tuổi, người lớn tuổi nhất là 52 tuổi. Nhóm tuổi hay gặp nhất là 25 đến 29 tuổi, chiếm tỷ lệ 38,7%. Những người từ 35 tuổi trở lên có thai - thuộc nhóm nguy cơ cao theo tuổi mẹ chiếm tỷ lệ 21,5%.

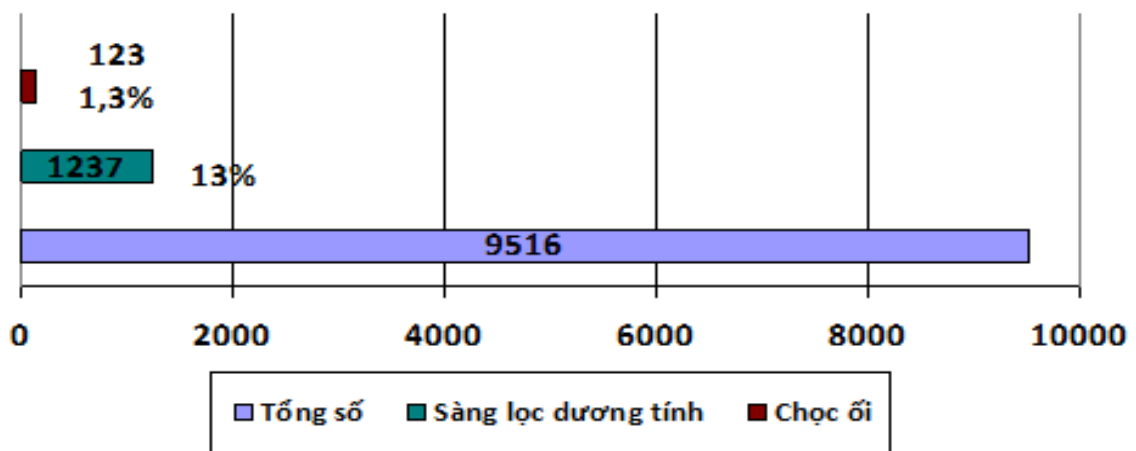
3.1.2. Tuổi thai khi làm xét nghiệm sàng lọc

Bảng 3.2: Phân bố tuổi thai khi xét nghiệm sàng lọc

Tuổi thai	Số lượng	Tỷ lệ %
< 13 tuần	698	7,3
13 - 22 tuần	1904	20,0
23-28 tuần	931	9,8
29 -37 tuần	3787	39,8
≥ 38 tuần	2196	23,1
Trung bình (tuổi)	28,9 $\pm$ 9,7	
Min – Max (tuổi)	5-42	

Tuổi thai trung bình người phụ nữ có thai được xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi là $28,9 \pm 9,7$ tuần tuổi thai. Người được làm xét nghiệm máu ở tuổi thai sớm nhất là 5 tuần, muộn nhất là thai tuần 41. Xét nghiệm máu sớm ở tuổi thai trước 13 tuần chỉ chiếm 7,3%. Xét nghiệm lúc thai đủ tháng từ tuần 38 trở đi chiếm 23,1%. Tuổi thai được làm xét nghiệm nhiều nhất là 29-37 tuần, chiếm 39,8%.

3.1.3. Tỷ lệ sàng lọc dương tính



Biểu đồ 3.1: Tỷ lệ sàng lọc dương tính

Trong tất cả 9516 đối tượng nghiên cứu khi được sàng lọc bệnh thalassemia bằng xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi thì phát hiện được 1237 trường hợp sàng lọc dương tính, tức là phụ nữ có thai biểu hiện hồng cầu nhỏ và/ hoặc hồng cầu nhược sắc, chiếm 13%. Những trường hợp này được tư vấn sàng lọc cho chồng bằng xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi, điện di huyết sắc tố và xét nghiệm đột biến gen thalassemia cho hai vợ chồng. Chẩn đoán được 123 phụ nữ có thai mang đột biến gen bệnh thalassemia và tư vấn chọn ối chẩn đoán bệnh cho thai.

Số người sàng lọc âm tính là 8279 người, chiếm 87%. Những người sàng lọc âm tính với bệnh thalassemia thì khám và theo dõi thai định kỳ.

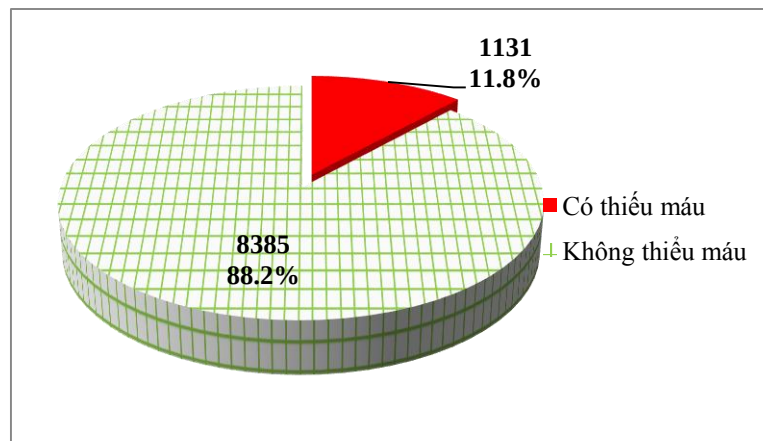
3.1.4. Đặc điểm tế bào hồng cầu theo tuổi thai

Bảng 3.3: Đặc điểm tế bào hồng cầu theo tuổi thai

Tuổi thai	N	RBC (T/l)	HGB (g/l)	MCV (fL)	MCH (pg)
<13 tuần	698	4,32 $\pm$ 0,37	126,74 $\pm$ 8,54	87,14 $\pm$ 4,49	29,53 $\pm$ 1,66
13-22 tuần	1904	4,21 $\pm$ 0,49	118,02 $\pm$ 11,38	84,36 $\pm$ 8,81	28,43 $\pm$ 5,24
23-28 tuần	931	3,93 $\pm$ 0,42	116,89 $\pm$ 8,89	88,93 $\pm$ 6,86	29,71 $\pm$ 2,52
29-37 tuần	3787	4,00 $\pm$ 0,37	120,99 $\pm$ 9,62	90,18 $\pm$ 4,65	30,07 $\pm$ 1,66
$\geq$ 38 tuần	2196	4,22 $\pm$ 0,36	126,31 $\pm$ 9,19	89,87 $\pm$ 4,31	29,94 $\pm$ 1,53
p		< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05

Các chỉ số trung bình về số lượng tế bào hồng cầu (RBC), huyết sắc tố (HGB), thể tích trung bình hồng cầu (MCV), huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCH) nhìn chung nằm trong giới hạn bình thường ở tất cả các đối tượng nghiên cứu theo từng nhóm tuổi thai. So sánh từng chỉ số theo các nhóm tuổi thai thì có khác nhau một cách có ý nghĩa thống kê.

3.1.5. Tỷ lệ thiếu máu (HGB < 110g/l)



Biểu đồ 3.2: Tỷ lệ thiếu máu

Có 1131 thai phụ thiếu máu với chỉ số HGB < 110g/l, chiếm 11,8%. Số thai phụ không thiếu máu là 8385 người, chiếm 88,2%.

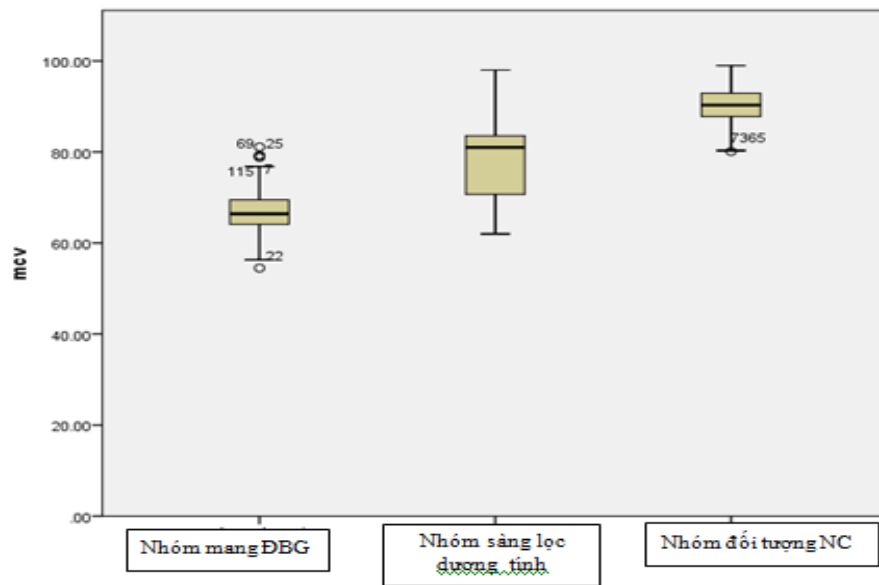
3.1.6. Đặc điểm tế bào hồng cầu theo phân loại có thiếu máu

Bảng 3.4: Đặc điểm tế bào hồng cầu theo phân loại thiếu máu

Nhóm	N	RBC (T/l)	HGB (g/l)	MCV (fL)	MCH (pg)
Có thiếu máu HGB < 110g/l	1131	$3,89 \pm 0,62$	$103,35 \pm 6,13$	$82,78 \pm 10,42$	$27,38 \pm 6,52$
Không thiếu máu HGB $\geq$ 110g/l	8385	$4,14 \pm 0,38$	$124,11 \pm 8,09$	$89,38 \pm 5,02$	$29,94 \pm 1,72$
p		< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05

Các chỉ số trung bình RBC, HGB, MCV, MCH ở nhóm có thiếu máu thấp hơn nhóm không thiếu máu một cách có ý nghĩa thống kê. Các chỉ số trung bình RBC, HGB, MCH của nhóm có thiếu máu đều thấp hơn trị số tham chiếu của người bình thường. Chỉ số trung bình MCV của nhóm thiếu máu nằm trong ngưỡng tham chiếu của người bình thường.

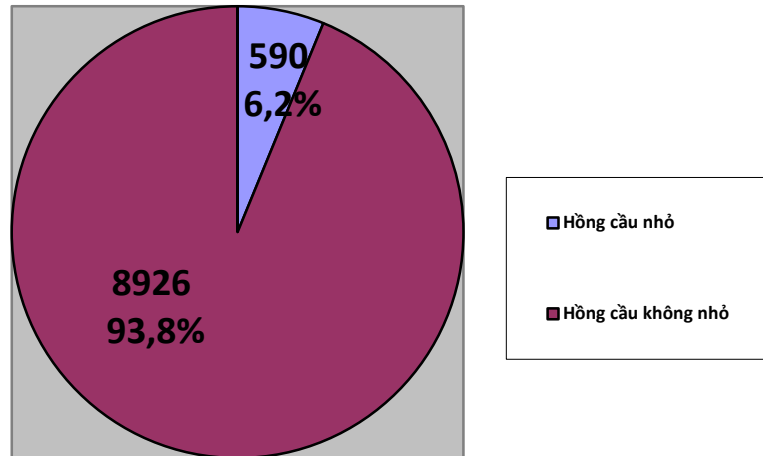
3.1.7. Kết quả xét nghiệm thể tích trung bình hồng cầu (MCV)



Biểu đồ 3.3: Kết quả xét nghiệm thể tích trung bình hồng cầu

Trên tổng số 9516 đối tượng nghiên cứu, 95% các thai phụ này có chỉ số MCV nằm trong khoảng $90,3 \pm 3,6$ fL- giá trị này nằm trong khoảng tham chiếu của người bình thường. Trong nhóm sàng lọc dương tính thì 95% các thai phụ này có chỉ số MCV nằm trong khoảng $78,0 \pm 7,3$ fL - nhỏ hơn trị số tham chiếu của người bình thường. Trong nhóm phụ nữ mang đột biến gen thalassemia thì 95% các thai phụ này có chỉ số MCV nằm trong khoảng $66,9 \pm 4,8$ fL, nhỏ hơn trị số tham chiếu của người bình thường.

3.1.8. Tỷ lệ hồng cầu nhỏ ($MCV < 80fL$)



Biểu đồ 3.4: Tỷ lệ hồng cầu nhỏ

Có 590 thai phụ có hồng cầu nhỏ với chỉ số $MCV < 80fL$, chiếm 6,2%. Số thai phụ có hồng cầu không nhỏ là 8926 người, chiếm 93,8%.

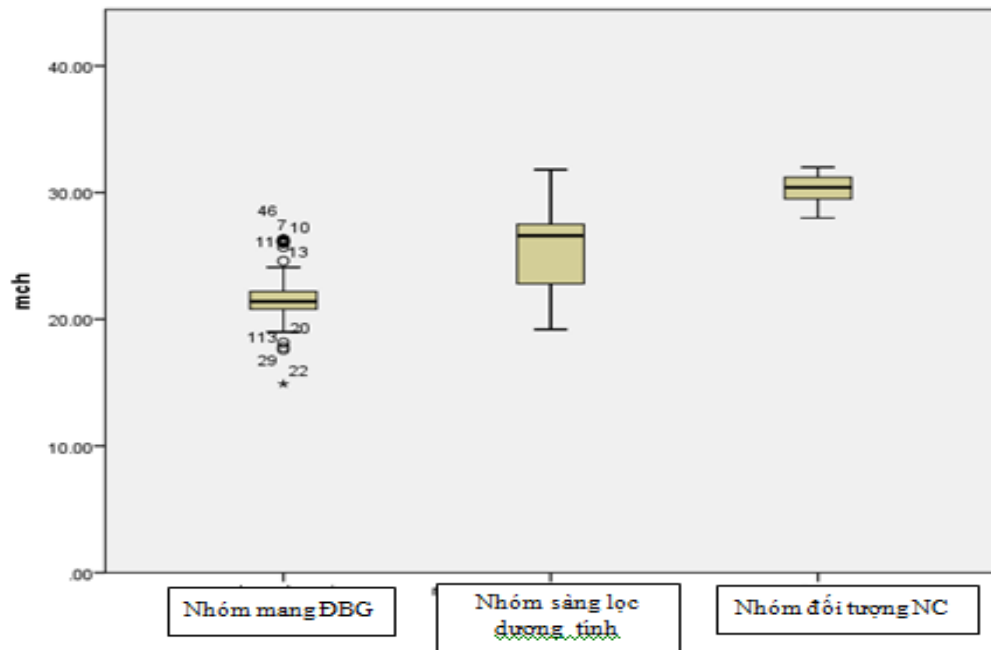
3.1.9. Đặc điểm tế bào hồng cầu theo phân nhóm hồng cầu nhỏ

Bảng 3.5: Đặc điểm tế bào hồng cầu theo phân loại hồng cầu nhỏ

Nhóm	N	RBC (T/l)	HGB (g/l)	MCV (fL)	MCH (pg)
HC nhỏ ($MCV < 80fl$)	590	$4,83 \pm 0,46$	$106,89 \pm 10,88$	$69,26 \pm 4,49$	$22,76 \pm 7,82$
HC không nhỏ ($MCV \geq 80fl$)	8926	$4,06 \pm 0,37$	$122,59 \pm 9,58$	$89,85 \pm 3,92$	$30,08 \pm 1,33$
p		$< 0,05$	$< 0,05$	$< 0,05$	$< 0,05$

Các chỉ số trung bình HGB, MCV, MCH ở nhóm hồng cầu nhỏ thấp hơn trị số tham chiếu của người bình thường và thấp hơn nhóm hồng cầu không nhỏ một cách có ý nghĩa thống kê. Riêng chỉ số trung bình RBC ở nhóm hồng cầu nhỏ là $4,83 \pm 0,46$ T/l cao hơn nhóm hồng cầu không nhỏ là $4,06 \pm 0,37$ T/l, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê.

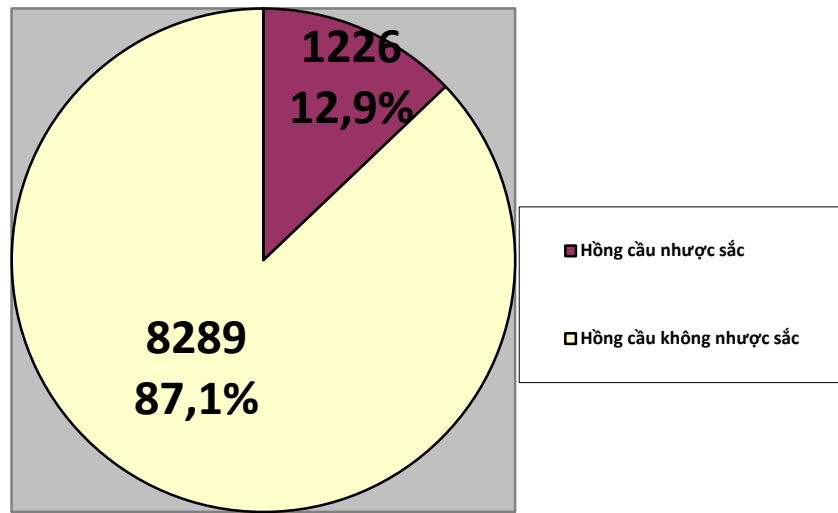
3.1.10. Kết quả xét nghiệm huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCH)



Biểu đồ 3.5: Kết quả xét nghiệm huyết sắc tố trung bình hồng cầu

Trên tổng số 9516 đối tượng nghiên cứu, 95% các thai phụ này có chỉ số MCH nằm trong khoảng $30,3 \pm 1,1$ pg - giá trị này nằm trong khoảng tham chiếu của người bình thường. Trong nhóm sàng lọc dương tính (hồng cầu nhỏ hoặc nhược sắc) thì 95% các thai phụ có chỉ số MCH nằm trong khoảng $25,4 \pm 2,7$ pg - nhỏ hơn trị số tham chiếu của người bình thường. Trong nhóm phụ nữ mang thai có đột biến gen thalassemia thì 95% các thai phụ này có chỉ số MCH nằm trong khoảng $21,6 \pm 1,8$ pg - nhỏ hơn trị số tham chiếu của người bình thường.

3.1.11. Tỷ lệ hồng cầu nhược sắc ($MCH < 28pg$)



Biểu đồ 3.6: Tỷ lệ hồng cầu nhược sắc

Số thai phụ có hồng cầu nhược sắc là 1226 người, chiếm 12,9%. Số thai phụ không bị hồng cầu nhược sắc là 8289 người, chiếm 87,1%.

3.1.12. Đặc điểm tế bào hồng cầu theo phân nhóm hồng cầu nhược sắc

Bảng 3.6: Đặc điểm tế bào hồng cầu theo phân loại hồng cầu nhược sắc

Nhóm	N	RBC (T/l)	HGB (g/l)	MCV (fL)	MCH (pg)
HC nhược sắc ($MCH < 28pg$)	1226	$4,57 \pm 0,49$	$112,57 \pm 11,95$	$76,98 \pm 7,86$	$24,93 \pm 2,81$
HC không nhược sắc	8289	$4,04 \pm 0,36$	$122,99 \pm 0,37$	$90,32 \pm 3,66$	$30,33 \pm 2,15$
p		$< 0,05$	$< 0,05$	$< 0,05$	$< 0,05$

Các chỉ số trung bình MCV, MCH ở nhóm hồng cầu nhược sắc thấp hơn trị số tham chiếu của người bình thường và thấp hơn nhóm hồng cầu không nhược sắc một cách có ý nghĩa thống kê. Riêng chỉ số trung bình RBC ở nhóm hồng cầu nhược sắc là $4,57 \pm 0,49 T/l$ cao hơn nhóm hồng cầu không

nhược sắc là $4,04 \pm 0,36$ T/l, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê. Chỉ số trung bình HGB của nhóm hồng cầu nhược sắc thấp hơn của nhóm hồng cầu không nhược sắc nhưng vẫn trong giới hạn trị số tham chiếu của người bình thường.

3.2. Kết quả chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia

Chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia được tiến hành trên những cặp vợ chồng có nguy cơ cao sinh con mắc bệnh thalassemia thể nặng. Chỉ định chọc ối được thực hiện trên những thai phụ có mang đột biến gen thalassemia.

Phân tích một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của 123 thai phụ được chọc ối từ tháng 7 năm 2015 đến tháng 9 năm 2018, cho các kết quả như sau:

3.2.1. Tuổi của thai phụ được chọc ối

Bảng 3.7: Phân bố tuổi của thai phụ được chọc ối

Độ tuổi	Số lượng	Tỷ lệ %
< 25	25	20,3
25-29	52	42,3
30-34	36	29,3
≥ 35	10	8,1
Tổng số	123	100
Trung bình (tuổi)	$28,83 \pm 5,02$	
Min – Max (tuổi)	20-46	

Tuổi trung bình của người phụ nữ có thai được chọc ối chẩn đoán bệnh thalassemia cho thai là $28,83 \pm 5,02$ tuổi. Người nhỏ tuổi nhất là 20 tuổi, người lớn tuổi nhất là 46 tuổi. Nhóm tuổi hay gặp nhất là 25 đến 29 tuổi, chiếm tỷ lệ 42,3%.

3.2.2. Dân tộc

Bảng 3.8: Phân bố dân tộc của thai phụ được chọn

Dân tộc	Số lượng	Tỷ lệ %
Kinh	82	66,7
Mường	7	5,7
Tày	15	12,2
Thái	10	8,1
Nùng	8	6,5
Cao Lan	1	0,8
Tổng	123	100

Trong 123 phụ nữ có thai được chọn thì người dân tộc kinh là chủ yếu có 82 người -chiếm 66,7%. 41 trường hợp còn lại thì người Tày đông nhất có 15 người- chiếm tỷ lệ 12,2%, người Thái có 10 người- chiếm 8,1%, người Nùng 8 người -chiếm 6,5%, người Mường có 7 người -chiếm 5,7%.

3.2.3. Đặc điểm tế bào hồng cầu theo tuổi thai

Bảng 3.9: Đặc điểm tế bào hồng cầu theo tuổi thai ở nhóm chọn.

Tuổi thai	N	RBC (T/l)	HGB (g/l)	MCV (fL)	MCH (pg)
<13 tuần	2	5,51 $\pm$ 0,48	115,67 $\pm$ 8,08	62,77 $\pm$ 4,09	21,03 $\pm$ 0,67
13-22 tuần	117	4,89 $\pm$ 0,46	105,40 $\pm$ 11,07	66,99 $\pm$ 4,78	23,09 $\pm$ 16,39
23-28 tuần	3	4,62 $\pm$ 0,49	101,37 $\pm$ 8,60	68,31 $\pm$ 3,93	21,98 $\pm$ 1,30
29-37 tuần	1	5,87	105,00	57,80	17,8
p		< 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Trong 123 trường hợp chọc ối có 117 trường hợp được xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi ở tuổi thai từ 13 đến 22 tuần. Có 1 trường hợp được xét nghiệm ở tuổi thai 31 tuần.

Các chỉ số trung bình về thể tích trung bình hồng cầu (MCV) và huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCH) đều thấp hơn ngưỡng tham chiếu của người bình thường ở tất cả các đối tượng. Có 2 trường hợp được xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi ở tuổi thai trước 13 tuần, trung bình chỉ số số lượng tế bào hồng cầu (RBC) cao hơn ngưỡng tham chiếu của người bình thường, chỉ số trung bình huyết sắc tố (HGB) trong giới hạn bình thường. 117 trường hợp được xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi ở tuổi thai từ 13 đến 22 tuần và 8 trường hợp được xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi ở tuổi thai từ 23 đến 28 tuần có chỉ số số lượng tế bào hồng cầu (RBC) trong giới hạn bình thường, chỉ số trung bình huyết sắc tố (HGB) thấp hơn ngưỡng tham chiếu của người bình thường.

3.2.4. Đặc điểm tế bào hồng cầu theo phân loại thiếu máu

Bảng 3.10: Đặc điểm tế bào hồng cầu theo phân loại thiếu máu ở nhóm chọc ối

Nhóm	N	RBC (T/l)	HGB (g/l)	MCV (fL)	MCH (pg)
Có thiếu máu HGB<110g/l	79 (64,2%)	4,74 ± 0,44	100,18 ± 8,92	66,32 ± 4,58	23,24 ± 19,10
Không thiếu máu HGB≥110g/l	44 (35,8%)	5,22 ± 0,39	115,91 ± 5,96	68,11 ± 5,04	22,33 ± 1,87
p		< 0,05	< 0,05	< 0,05	> 0,05

Trong 123 thai phụ có mang đột biến gen thalassemia thì 80 thai phụ có biểu hiện thiếu máu. Các chỉ số trung bình HGB, MCV, MCH của nhóm có thiếu máu đều thấp hơn trị số tham chiếu của người bình thường. Các chỉ số trung bình RBC, HGB, MCV ở nhóm có thiếu máu thấp hơn nhóm không thiếu máu một cách có ý nghĩa thống kê.

3.2.5. Xét nghiệm đột biến gen của 123 thai phụ được chọn ồi

Bảng 3.11: Xét nghiệm đột biến gen của thai phụ được chọn ồi

Đột biến gen mẹ	Số lượng	Tỷ lệ %
Mang gen α -thalassemia	96	78,0
Mang gen β -thalassemia	12	9,8
HbE	7	5,7
Phối hợp	8	6,5
Tổng	123	100

Đột biến gen của thai phụ chiếm tỷ lệ cao nhất ở nhóm mang gen α -thalassemia, có 96 trường hợp chiếm 78%.

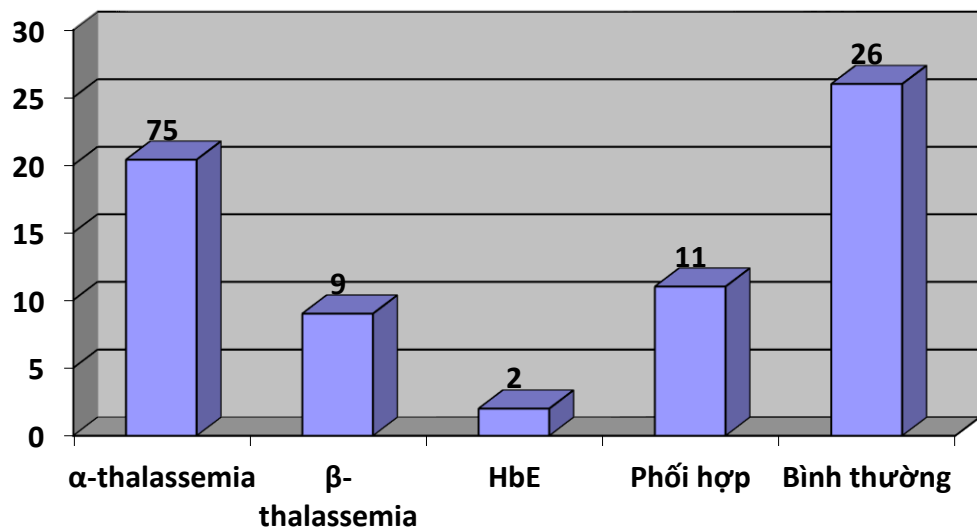
3.2.6. Phân bố đột biến gen của thai phụ

Bảng 3.12: Phân bố đột biến gen của thai phụ

Kiểu gen		Số lượng	Tỷ lệ %
Bệnh α-thalassemia (96 trường hợp)	Dị hợp tử SEA	90	73,2
	Dị hợp tử THAI	1	0,8
	Dị hợp tử SEA và dị hợp tử $\alpha 3.7$	3	2,5
	Dị hợp tử SEA và Cs	1	0,8
	Dị hợp tử $\alpha 3.7$	1	0,8
Bệnh β- thalassemia (12 trường hợp)	Dị hợp tử CD17	7	5,7
	Dị hợp tử CD41/42	3	2,5
	Dị hợp tử CD71/72	1	0,8
	Dị hợp tử IVS1-1	1	0,8
Bệnh Huyết sắc tố E (7 trường hợp)	Dị hợp tử CD26	5	4,1
	Đồng hợp tử CD26	2	1,6
Phối hợp (8 trường hợp)	Dị hợp tử SEA và dị hợp tử CD26	4	3,2
	Dị hợp tử SEA và dị hợp tử CD41/42	2	1,6
	Dị hợp tử SEA, Cs và dị hợp tử CD26	1	0,8
	Dị hợp tử $\alpha 4.2$ và dị hợp tử CD71/72	1	0,8
Tổng		123	100

Trong các kiểu đột biến gen của thai phụ thì kiểu đột biến dị hợp tử SEA gặp với tần suất cao nhất là 73,2% (có 90 trường hợp). Có hai trường hợp thai phụ có kiểu hình là bệnh α -thalassemia phụ thuộc truyền máu là người có kiểu gen dị hợp tử SEA và Cs và người có kiểu gen phối hợp dị hợp tử SEA, Cs và dị hợp tử CD26.

3.2.7. Kết quả đột biến gen của thai



Biểu đồ 3.7: Kết quả xét nghiệm đột biến gen thalassemia của thai từ nước ối

Đột biến gen α -thalassemia gặp nhiều nhất trong các kết quả chọc ối là 75 trường hợp, chiếm 61%.

3.2.8. Phân bố đột biến gen của thai

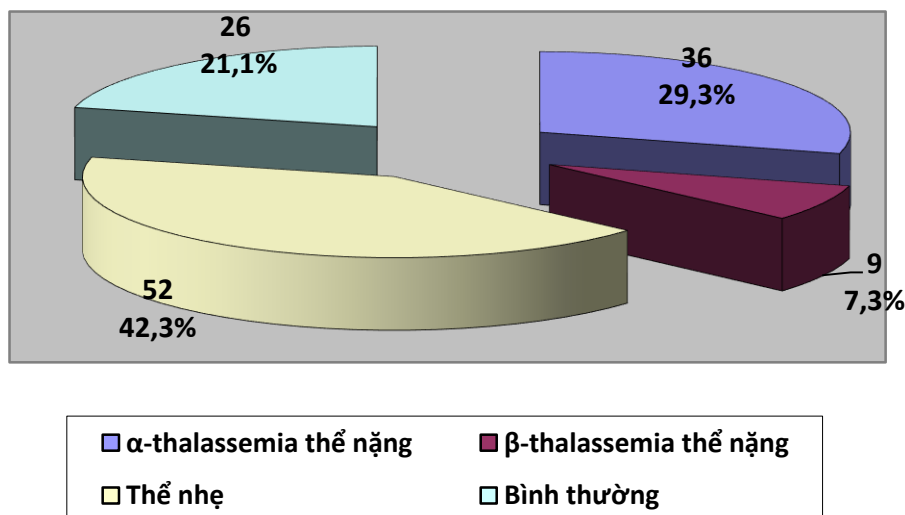
Bảng 3.13: Phân bố đột biến gen thalassemia của thai từ nước ối.

	Kiểu gen	Số lượng	Tỷ lệ %
Bệnh α-thalassemia (75 trường hợp, 61%)	Đồng hợp tử SEA	35	28,6
	Dị hợp tử SEA	34	27,7
	Dị hợp tử THAI	1	0,8
	Dị hợp tử SEA và dị hợp tử $\alpha 3.7$	3	2,5
	Dị hợp tử SEA và dị hợp tử $\alpha 4.2$	1	0,8
	Dị hợp tử $\alpha 3.7$ và dị hợp tử $\alpha 4.2$	1	0,8
Bệnh β-thalassemia (9 trường hợp, 7,3%)	Đồng hợp tử CD17	1	0,8
	Dị hợp tử CD17	3	2,5
	Dị hợp tử CD17 và dị hợp tử CD41/42	2	1,6
	Dị hợp tử CD41/42 và dị hợp tử CD71/72	1	0,8
	Dị hợp tử CD41/42	1	0,8
	Dị hợp tử CD41/42 và dị hợp tử -28	1	0,8
Bệnh Huyết sắc tố E (2 trường hợp)	Dị hợp tử CD26	2	1,6
Phối hợp (11 trường hợp, 8,9%)	Đồng hợp tử SEA và dị hợp tử CD26	1	0,8
	Dị hợp tử SEA và dị hợp tử CD26, dị hợp tử CD71/72	1	0,8
	Dị hợp tử SEA và dị hợp tử CD26, dị hợp tử CD41/42	1	0,8
	Dị hợp tử CD26, dị hợp tử CD41/42	1	0,8
	Dị hợp tử CD26, dị hợp tử CD17	2	1,6
	Dị hợp tử SEA và dị hợp tử CD26	1	0,8
	Dị hợp tử SEA và dị hợp tử CD41/42	1	0,8
	Dị hợp tử SEA và dị hợp tử CD17	2	1,6
	Dị hợp tử CD41/42 và IVS-I	1	0,8
Bình thường		26	21,1
Tổng		123	100

Trong số 123 trường hợp chọc ối thì có 36 trường hợp thai bị α -thalassemia thể nặng (trong đó 35 trường hợp thai mang kiểu gen đồng hợp tử SEA và 1 trường hợp thai mang kiểu gen phối hợp đồng hợp tử SEA với dị hợp tử CD26), kết quả là thai sẽ chết trong tử cung hoặc chết ngay sau sinh. Có 4 trường hợp β -thalassemia thể nặng với kiểu gen là đồng hợp tử CD17, dị hợp tử kép giữa CD17, CD41/42, CD 71/72; những trẻ mang kiểu gen này có biểu hiện kiểu hình là β -thalassemia thể nặng, phải điều trị truyền máu và thải sắt suốt đời. Có 5 trường hợp bệnh β -thalassemia/HbE sẽ biểu hiện lâm sàng của bệnh β -thalassemia thể nặng với kiểu gen là: 1 trường hợp phối hợp dị hợp tử CD26 với dị hợp tử CD71/72 và SEA, 1 trường hợp phối hợp dị hợp tử CD26 với dị hợp tử CD 41/42 và SEA, 1 trường hợp phối hợp dị hợp tử CD26 với dị hợp tử CD 41/42 và 2 trường hợp phối hợp dị hợp tử CD26 với dị hợp tử CD 17.

Có 26 trường hợp thai không mang đột biến gen thalassemia và những trường hợp còn lại thai có biểu hiện bệnh thalassemia thể nhẹ.

3.2.9. Phân loại thể lâm sàng của bệnh khi chọc ối



Biểu đồ 3.8: Tỷ lệ phát hiện đột biến gen của thai khi chọc ối

Tổng số trường hợp thai mang kiểu gen α -thalassemia thể nặng là 36 trường hợp- chiếm 29,3%, bao gồm 35 trường hợp đồng hợp tử đột biến SEA và 1 trường hợp phối hợp giữa đồng hợp tử đột biến SEA và dị hợp tử CD 26. Tổng số trường hợp thai mang kiểu gen β -thalassemia thể nặng là 9 trường hợp- chiếm 7,3%, bao gồm các trường hợp đột biến đồng hợp tử hoặc dị hợp tử kép trên gen HbB, và phối hợp β -thalassemia/HbE.

Tổng số thai mang kiểu gen thể nhẹ là 52 trường hợp- chiếm 42,3 %.

Có 26 trường hợp thai không mang gen bệnh, chiếm 21,1%.

3.2.10. Liên quan giữa kết quả chọc ối của thai và xét nghiệm đột biến gen thalassemia của mẹ

Bảng 3.14: Mối liên quan giữa kiểu gen của thai và xét nghiệm đột biến gen thalassemia của mẹ

Kết quả chọc ối XN ĐBG mẹ	Bình thường	α- thalassemia	β- thalassemia	Phối hợp, HbE	Tổng số
Mang gen α -thalassemia	21 (17%)	71 (57,7%)	1 (0,8%)	3 (2,5%)	96 (78%)
Mang gen β -thalassemia	2 (1,6%)	0 (0%)	7 (5,7%)	3 (2,5%)	12 (9,8%)
Phối hợp, HbE	3 (2,5%)	4 (3,2%)	1 (0,8%)	7 (5,7%)	15 (5,7%)
Tổng	26 (21,1%)	75 (60,9%)	9 (7,3%)	13 (10,7%)	123 (100%)

Có 96 trường hợp mẹ mang gen α - thalassemia được chọc ối thu được kết quả là 71 trường hợp con cũng mang gen α - thalassemia, như vậy tỷ lệ di truyền

gen bệnh α -thalassemia từ mẹ sang con là 71/96 (chiếm 74%). Tỷ lệ di truyền gen bệnh β -thalassemia từ mẹ sang con là 7/12 trường hợp (chiếm 58%).

Có 12 trường hợp mẹ mang gen β -thalassemia được chọn ôi thu được kết quả là 7 trường hợp con cũng mang gen β -thalassemia.

3.2.11. Liên quan giữa kết quả HGB và đột biến gen của thai phụ

Bảng 3.15: Liên quan giữa kết quả đột biến gen và HGB của thai phụ

HGB		< 110 g/L		≥ 110 g/L	
		Số lượng	Tỷ lệ %	Số lượng	Tỷ lệ %
Bệnh α-thalassemia (96 trường hợp)	Dị hợp tử SEA	57	46,4	33	26,9
	Dị hợp tử THAI	1	0,8	0	0
	Dị hợp tử SEA và dị hợp tử $\alpha 3.7$	2	1,6	1	0,8
	Dị hợp tử SEA và Cs	1	0,8	0	0
	Dị hợp tử $\alpha 3.7$	0	0	1	0,8
Bệnh β-thalassemia (12 trường hợp)	Dị hợp tử CD17	7	5,7	0	0
	Dị hợp tử CD41/42	3	2,5	0	0
	Dị hợp tử CD71/72	1	0,8	0	0
	Dị hợp tử IVS1-1	1	0,8	0	0
Bệnh Hb E (7 trường hợp)	Dị hợp tử CD26	0	0	5	4,1
	Đồng hợp tử CD26	1	0,8	1	0,8
Phối hợp (8 trường hợp)	Dị hợp tử SEA và dị hợp tử CD26	2	1,6	2	1,6
	Dị hợp tử SEA và dị hợp tử CD41/42	2	1,6	0	0
	Dị hợp tử SEA, Cs và dị hợp tử CD26	1	0,8	0	0
	Dị hợp tử $\alpha 4.2$ và dị hợp tử CD71/72	0	0	1	0,8
Tổng		79	64,2	44	35,8

Có 79 thai phụ mang đột biến gen thalassemia có thiếu máu, chiếm tỷ lệ 64,2%, trong đó có hai trường hợp thiếu máu nặng phụ thuộc truyền máu là một người mang đột biến dị hợp tử SEA và Cs, một người mang đột biến dị hợp tử SEA và Cs phối hợp với dị hợp tử CD26.

3.2.12. Liên quan giữa kết quả MCV và đột biến gen α -thalassemia

Bảng 3.16: Liên quan giữa kết quả MCV và đột biến gen α -thalassemia

MCV (fL) Đột biến gen	< 65	65-74,9	75-79,9	80-85	Tổng
Dị hợp tử SEA	26 (27,2%)	62 (64,6%)	2 (2,1%)	0	90 (93,9%)
Dị hợp tử THAI	0	1 (1%)	0	0	1 (1%)
Dị hợp tử SEA và dị hợp tử $\alpha 3.7$	1 (1%)	2 (2,1%)	0	0	3 (3,1%)
Dị hợp tử SEA và Cs	0	0	0	1 (1%)	1 (1%)
Dị hợp tử $\alpha 3.7$	0	0	1 (1%)	0	1 (1%)
Tổng	27 (28,2%)	65 (67,7%)	3 (3,1%)	1 (1%)	96 (100%)

Các thai phụ mang đột biến gen α -thalassemia có chỉ số MCV chủ yếu ở ngưỡng dưới 75fL. Chỉ có 1 thai phụ có chỉ số MCV trong ngưỡng tham chiếu

của người bình thường là 81,1fL, nhưng trường hợp này lại thiếu máu nặng phải truyền máu với chỉ số RBC là 2,85 T/l; HGB là 60g/l và MCH là 21,1 pg.

3.2.13. Liên quan giữa kết quả MCH và đột biến gen α -thalassemia

Bảng 3.17: Liên quan giữa kết quả MCH và đột biến gen α -thalassemia

MCH (pg) Đột biến gen	< 20	20-23,9	24-27,9	Tổng
Dị hợp tử SEA	3 (3,1%)	85 (88,7%)	2 (2,1%)	90 (93,9%)
Dị hợp tử THAI	0	1 (1%)	0	1 (1%)
Dị hợp tử SEA và dị hợp tử α 3.7	1 (1%)	2 (2,1%)	0	3 (3,1%)
Dị hợp tử SEA và Cs	0	1 (1%)	0	1 (1%)
Dị hợp tử α 3.7	0	0	1 (1%)	1 (1%)
Tổng	4 (4,1%)	89 (92,8%)	3 (3,1%)	96 (100%)

Các thai phụ mang đột biến gen α -thalassemia có chỉ số MCH chủ yếu ở ngưỡng dưới từ 20 đến 23,9 pg.

3.2.14. Liên quan giữa kết quả MCV và đột biến gen β -thalassemia

Bảng 3.18: Liên quan giữa kết quả MCV và đột biến gen β -thalassemia

MCV (fL) Đột biến gen	< 65	65-74,9	75-79,9	Tổng
Dị hợp tử CD17	5 (26,4 %)	2 (10,5 %)	0	7 (36,8 %)
Dị hợp tử CD41/42	2 (10,5 %)	1 (5,3%)	0	3 (15,8%)
Dị hợp tử CD71/72	1 (5,3%)	0	0	1 (5,3%)
Dị hợp tử IVS1-1	1 (5,3%)	0	0	1 (5,3%)
Dị hợp tử CD26	0	2 (10,5 %)	3 (15,8%)	5 (26,4 %)
Đồng hợp tử CD26	1 (5,3%)	0	1 (5,3%)	2 (10,5 %)
Tổng	10 (52,6%)	5 (26,3%)	4 (21,1%)	19 (100%)

52,6% các thai phụ mang đột biến trên gen β -thalassemia có chỉ số MCV nhỏ hơn 65 fL, không có trường hợp nào chỉ số MCH từ 75fL trở lên. Có 4 trường hợp MCV từ 75fL đến 79,9fL là 4 trường hợp thai phụ bệnh HbE (đột biến CD26 trên gen HbB).

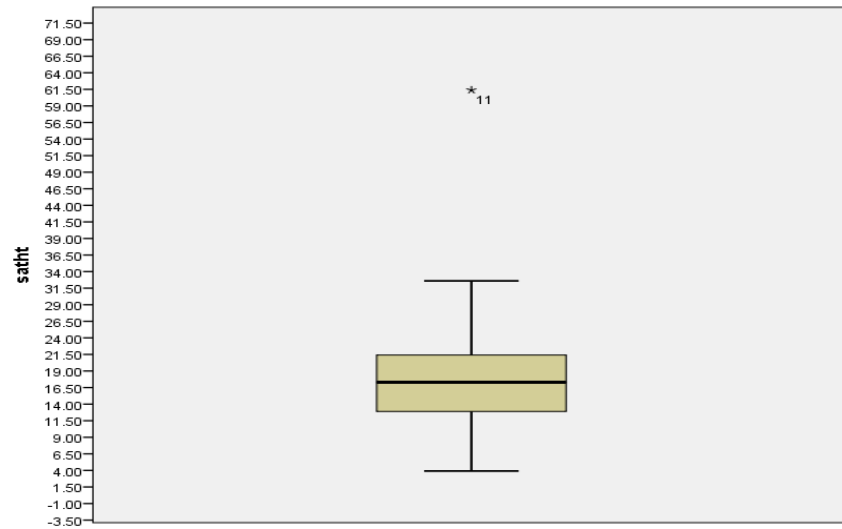
3.2.15. Liên quan giữa kết quả MCH và đột biến gen β -thalassemia

Bảng 3.19: Liên quan giữa kết quả MCH và đột biến gen β -thalassemia

MCH (pg) Đột biến gen	< 20	20-23,9	24-27,9	Tổng
Dị hợp tử CD17	3 (15,8%)	4 (21,1%)	0	7 (36,8 %)
Dị hợp tử CD41/42	2 (10,5 %)	1 (5,3%)	0	3 (15,8%)
Dị hợp tử CD71/72	1 (5,3%)	0	0	1 (5,3%)
Dị hợp tử IVS1-1	0	1 (5,3%)	0	1 (5,3%)
Dị hợp tử CD26	0	1 (5,3%)	4 (21,1%)	5 (26,4 %)
Đồng hợp tử CD26	1 (5,3%)	0	1 (5,3%)	2 (10,5 %)
Tổng	7 (36,8%)	7 (36,8%)	5 (26,4%)	19 (100%)

Mười bốn thai phụ có chỉ số MCH nhỏ hơn 24pg thì 12 người mang gen bệnh β -thalassemia. Năm thai phụ có chỉ số MCH từ 24 đến 27,9pg là người bệnh HbE.

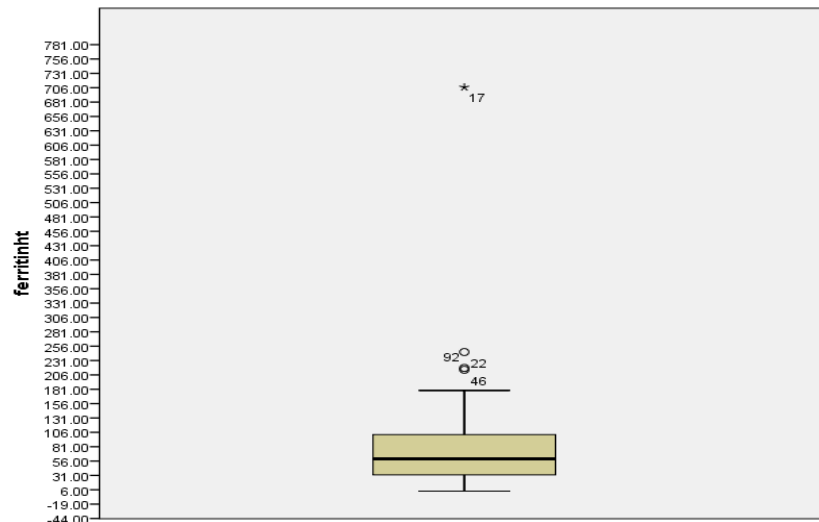
3.2.16. Kết quả xét nghiệm Sắt huyết thanh



Biểu đồ 3.9: Kết quả xét nghiệm sắt huyết thanh

95% các thai phụ này có chỉ số sắt huyết thanh nằm trong khoảng $17,87 \pm 7,7 \mu\text{mol/l}$, khoảng này nằm trong ngưỡng tham chiếu của người bình thường. Trị số nhỏ nhất là $3,9 \mu\text{mol/l}$ và lớn nhất là $61,4 \mu\text{mol/l}$.

3.2.17. Kết quả xét nghiệm Ferritin huyết thanh



Biểu đồ 3.10: Kết quả xét nghiệm Ferritin huyết thanh

95% các thai phụ này có chỉ số Ferritin huyết thanh nằm trong khoảng $76,9 \pm 80,9 \mu\text{g/l}$, khoảng này nằm trong ngưỡng tham chiếu của người bình thường. Trị số nhỏ nhất là $3,7 \mu\text{g/l}$ và lớn nhất là $706,8 \mu\text{g/l}$.

3.2.18. Kết quả xét nghiệm điện di huyết sắc tố

Bảng 3.20: Mối liên quan giữa kết quả đột biến gen của mẹ và xét nghiệm điện di huyết sắc tố của mẹ

Kết quả ĐBG mẹ XN máu mẹ		α - thalassemia	β - thalassemia	Phối hợp, HbE	Tổng (Tỷ lệ %)
Điện di Hb	Bình thường	51	1	0	52 (44,3%)
	Bất thường	4	5	10	19 (11,4%)
	Không xét nghiệm	39	5	8	52 (44,3%)
Tổng		94	11	18	123 (100%)

Trong số 123 thai phụ có mang đột biến gen bệnh thalassemia thì có 19 trường hợp phát hiện có kết quả điện di huyết sắc tố bất thường (chiếm 11,4%), 52 trường hợp có kết quả điện di huyết sắc tố bình thường (chiếm 44,3%) và 52 trường hợp từ chối không làm điện di huyết sắc tố nhưng vẫn làm xét nghiệm tìm đột biến gen thalassemia.

Trong 52 trường hợp có kết quả điện di huyết sắc tố bình thường thì đa số là người mang đột biến gen α - thalassemia- có 51 người, 1 người mang đột biến gen β - thalassemia và không có ai mang đột biến gen HbE hay mang phối hợp các đột biến gen.

3.2.19. Kết quả siêu âm thai

Bảng 3.21: Đặc điểm siêu âm thai ở nhóm chọc ối

Siêu âm thai	Số lượng	Tỷ lệ %
Bình thường	98	79,7
Phù thai	14	11,4
Khác	11	8,9
Tổng	123	100

Trong số 123 trường hợp được chọc ối, có 98 trường hợp chiếm 79,7% có kết quả siêu âm thai bình thường, 14 trường hợp chiếm 11,4% có kết quả siêu âm là phù thai, 11 trường hợp chiếm 8,9% có kết quả siêu âm bất thường khác.

3.2.20. Liên quan giữa đột biến gen của thai và kết quả siêu âm thai

Bảng 3.22: Mối liên quan giữa kiểu gen của thai và siêu âm thai

Đột biến gen Siêu âm thai	Bình thường	α-thalassemia	β-thalassemia	Phối hợp, HbE	Tổng
Bình thường	23 (18,7%)	53 (43,1%)	9 (7,3%)	13 (10,6%)	98 (79,7%)
Phù thai	0	14 (11,4%)	0	0	14 (11,4%)
Khác	3 (2,4%)	8 (6,5%)	0	0	11 (8,9%)
Tổng	26 (21,1%)	75 (61%)	9 (7,3%)	13 (10,6%)	123 (100%)
p	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	

Có 14 trường hợp siêu âm phù thai thì kết quả chọc ối là cả 14 trường hợp thai mang đột biến đồng hợp tử SEA.

3.2.21. Tiền sử sản khoa

Bảng 3.23: Đặc điểm tiền sử sản khoa ở nhóm chọc ối

Tiền sử sản khoa	Số lượng	Tỷ lệ %
Con mang gen bệnh	19	15,4
Phù thai	64	52
Khác	40	32,6
Tổng	123	100

Trong số 123 trường hợp được chọc ối, có 19 trường hợp chiếm 15,4% đã có con được chẩn đoán mang gen bệnh thalassemia, 64 trường hợp chiếm 52% đã có tiền sử phù thai.

3.2.22. Liên quan giữa kết quả đột biến gen của thai phụ và tiền sử phù thai

Bảng 3.24: Mối liên quan giữa kiểu gen của thai phụ và tiền sử phù thai

Đột biến gen Tiền sử	Dị hợp tử SEA		Phối hợp dị hợp tử SEA và đột biến khác		Tổng	
	N	%	N	%	N	%
1 lần phù thai	41	69,5	4	80	45	70,3
2 lần phù thai	18	30,5	1	20	19	29,7
Tổng	59	100	5	100	64	100
p	< 0,05		< 0,05			

Có 64 trường hợp có tiền sử phù thai khi được làm xét nghiệm đột biến gen cho mẹ thì tất cả các trường hợp mẹ mang đột biến ít nhất 2 gen HBA.

3.2.23. Liên quan giữa kết quả đột biến gen của thai và tiền sử phù thai

Bảng 3.25: Mối liên quan giữa kiểu gen của thai và tiền sử sản khoa

Tiền sử Đột biến gen	1 lần phù thai		2 lần phù thai		Tổng	
	N	%	N	%	N	%
Đồng hợp tử SEA	15	33,3	10	52,6	25	39,1
Dị hợp tử SEA	20	44,4	5	26,3	25	39,1
Bình thường	8	17,9	4	21,1	12	18,7
Khác	2	4,4	0	0	2	3,1
Tổng	45	100	19	100	64	100
p	< 0,05		< 0,05			

Có 19 trường hợp có tiền sử 2 lần phù thai khi được chọn ối làm xét nghiệm đột biến gen cho thai thì 10 trường hợp tiếp tục bị phù thai lần 3 do thai mang kiểu gen đồng hợp tử đột biến SEA.

Có 45 trường hợp tiền sử 1 lần phù thai thì lần này 15 thai tiếp tục bị phù thai, hai trường hợp khác trong đó có 1 trường hợp mang kiểu gen đồng hợp tử đột biến SEA kết hợp với dị hợp tử CD26 cũng sẽ có biểu hiện phù thai sau này, 1 trường hợp thai mang kết hợp đột biến dị hợp tử SEA và dị hợp tử CD 41/42, dị hợp tử CD26 sẽ có biểu hiện bệnh là β -thalassemia thể nặng.

Chương 4

BÀN LUẬN

4.1. Bàn luận về một số chỉ số huyết học của các thai phụ tham gia sàng lọc bệnh thalassemia tại Bệnh viện Phụ Sản Trung Ương

4.1.1. Về tuổi của người phụ nữ khi có thai

Số liệu thể hiện trong bảng 3.1 cho thấy tuổi trung bình của phụ nữ đến khám thai được sàng lọc thalassemia tại bệnh viện Phụ Sản Trung Ương là $30,4 \pm 5,3$ tuổi. Nhóm tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất là 38,7% ở nhóm 25 đến 29 tuổi, tiếp theo là 28,7% ở nhóm tuổi 30 đến 34 tuổi. Kết quả này phù hợp với đặc điểm dân số Việt Nam [72].

Nhóm tuổi từ 35 trở lên chiếm 21,5% tổng số phụ nữ có thai trong nghiên cứu, đây là đối tượng có nguy cơ cao về dị tật và bệnh lý của thai cũng như các vấn đề sản khoa về phía mẹ. Nhóm đối tượng này cần được quản lý thai nghén chặt chẽ hơn và cần sàng lọc và chẩn đoán trước sinh nhiều hơn nhằm phát hiện sớm các nguy cơ về phía mẹ cũng như về phía thai để được tư vấn và xử trí kịp thời.

Do đặc điểm di truyền của bệnh thalassemia là di truyền đơn gen, có thể di truyền từ thế hệ bố mẹ sang thế hệ con mà không phụ thuộc theo lứa tuổi nên tất cả phụ nữ có thai được sàng lọc như nhau.

4.1.2. Về tuổi thai được làm xét nghiệm sàng lọc bệnh thalassemia

Theo bảng 3.2, tuổi thai người phụ nữ có thai được làm xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi là $28,9 \pm 9,7$ tuổi, trong đó 39,8% được làm xét nghiệm lúc thai 29 đến 37 tuần và 23,1% được làm xét nghiệm khi thai đủ tháng từ tuần thứ 38. Tỷ lệ phụ nữ có thai được xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi sớm trước 13 tuần chỉ chiếm 7,3% và ở tuần 13 đến 22 là 20%. Như vậy

tỷ lệ phụ nữ có thai được sàng lọc sớm một số bệnh lý của mẹ như thiếu máu, thalassemia,... còn thấp. Những phụ nữ có thai được sàng lọc thalassemia phát hiện có nguy cơ cao mang gen bệnh còn cần qua các bước tư vấn, chẩn đoán bệnh cho thai phụ và chồng để đi đến bước cuối cùng là chọc ối chẩn đoán bệnh thalassemia cho thai. Việc chọc ối sau 29 tuần tuổi thai để chẩn đoán bệnh thalassemia cho thai có hiệu quả hạn chế vì lúc có kết quả chọc ối (sau 3 tuần) thì thai đã lớn, tuổi thai từ 32 tuần, trẻ có khả năng sống sau sinh, do đó những chỉ định sản khoa cũng thay đổi. Những trường hợp chọc ối làm xét nghiệm di truyền chẩn đoán được thai mang kiểu gen β - thalassemia đồng hợp tử hoặc dị hợp tử kép, sẽ có biểu hiện kiểu hình là β - thalassemia thể nặng cần truyền máu và thải sắt suốt đời- nhưng tuổi thai đã lớn thì rất hạn chế chỉ định gây đẻ non vì sau đẻ gia đình và bệnh viện phải nuôi một trẻ non tháng kèm bệnh lý thì rất khó khăn và tốn kém. Những trường hợp thai mang kiểu gen α - thalassemia đồng hợp tử khi tuổi thai lớn đã có thể có biểu hiện phù thai, thậm chí mẹ bị tiền sản giật, sản phụ phải đối mặt với nguy cơ tai biến sản khoa là băng huyết sau đẻ và sản giật.

Các thai phụ được sàng lọc sớm bệnh thalassemia trước 13 tuần tuổi thai sẽ có thời gian để tư vấn thai phụ và gia đình làm tiếp các xét nghiệm chẩn đoán xem thai phụ và chồng có mang gen thalassemia hay không, và quan trọng là có thể chỉ định chọc ối sớm ở tuổi thai 16-17 tuần và có kết quả đột biến gen của thai trước tuần 22. Từ đó, nếu trường hợp thai kiểu gen α - thalassemia đồng hợp tử sẽ tư vấn cho thai phụ và gia đình đình chỉ thai nghén sớm khi chưa có biểu hiện về phù thai trên siêu âm hay chưa có biểu hiện tiền sản giật ở mẹ. Trường hợp thai kiểu gen β - thalassemia đồng hợp tử hoặc dị hợp tử kép với biểu hiện kiểu hình sau này là β - thalassemia thể nặng cần truyền máu và thải sắt suốt đời thì sẽ tư vấn cho thai phụ và gia đình. Tùy hoàn cảnh cụ thể của từng gia đình, có thể quyết định đình chỉ thai nghén nếu gia đình đã có người bị bệnh

nặng phụ thuộc truyền máu và không khó khăn trong việc có thai. Nếu cặp vợ chồng hiếm muộn, không muốn ngừng thai thì cho trẻ được khám và điều trị sớm trong năm đầu đời tại chuyên khoa Huyết học nhằm giảm thiểu những biến chứng thể chất của trẻ do bệnh thalassemia.

Thalassemia là bệnh có thể phòng tránh được. Việc tầm soát gen bệnh sớm, trước kết hôn và khi mang thai sẽ hạn chế được nguy cơ sinh ra những đứa trẻ bị bệnh thể nặng, góp phần đảm bảo chất lượng dân số cho cộng đồng, tăng cường chất lượng cuộc sống cho người dân. Để được sàng lọc sớm bệnh thalassemia khi mang thai, người phụ nữ có thai cần đi khám sớm trong 3 tháng đầu và các bác sĩ sản khoa cần tư vấn cho người phụ nữ mang thai được làm sớm xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi.

4.1.3. Tỷ lệ sàng lọc bệnh thalassemia có kết quả dương tính

Theo biểu đồ 3.1, trong tất cả 9516 đối tượng nghiên cứu khi được sàng lọc bằng xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi thì có 1237 trường hợp sàng lọc cho kết quả dương tính, nghĩa là phụ nữ có thai biểu hiện hồng cầu nhỏ ($MCV < 80 \text{ f/l}$) hoặc hồng cầu nhược sắc ($MCH < 28 \text{ pg}$). Những trường hợp này được tư vấn sàng lọc cho chồng bằng xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi. Nếu chồng sàng lọc âm tính, nghĩa là không có biểu hiện hồng cầu nhỏ ($MCV < 80 \text{ f/l}$) hoặc hồng cầu nhược sắc ($MCH < 28 \text{ pg}$) thì ngừng sàng lọc vì chồng ít nguy cơ mang gen thalassemia. Căn cứ vào cơ chế di truyền của bệnh thalassemia là di truyền gen lặn trên nhiễm sắc thể thường, trường hợp chỉ một trong hai bố mẹ mang gen bệnh khi di truyền gen bệnh sang con thì con có thể mang kiểu gen dị hợp tử, không có nguy cơ bị bệnh thalassemia thể nặng. Những trường hợp chồng có biểu hiện hồng cầu nhỏ ($MCV < 80 \text{ f/l}$) hoặc hồng cầu nhược sắc ($MCH < 28 \text{ pg}$) thì cần chẩn đoán cho hai vợ chồng có mang gen bệnh thalassemia hay không và kiểu gen như thế nào để phân tích nguy cơ di truyền bệnh cho con. Để chẩn đoán kiểu gen cho hai vợ chồng

thì phải xét nghiệm di truyền phân tử tìm đột biến gen thalassemia. Kết quả xét nghiệm di truyền này có giá trị cả đời, các thầy thuốc dựa trên kết quả đó, phân tích theo cơ chế di truyền để tư vấn nguy cơ di truyền cho mỗi lần mang thai của hai vợ chồng.

Nếu kiểu gen của hai vợ chồng có nguy cơ di truyền cho con để tạo thành những kiểu gen có biểu hiện kiểu hình là bệnh thalassemia thể nặng thì chỉ định chọc ối để chẩn đoán kiểu gen cho thai. Tuy nhiên mục đích cuối cùng là chẩn đoán cho thai xem có mang gen bệnh thalassemia hay không và kiểu gen như thế nào, có khả năng sống sót sau sinh không, có khả năng mắc bệnh thalassemia thể nặng hay không. Do đó nếu hai vợ chồng không muốn xét nghiệm cho họ nhưng vẫn muốn chẩn đoán cho thai thì chỉ định chọc ối tìm cả đột biến gen α -thalassemia và đột biến gen β -thalassemia.

4.1.4. Về đặc điểm của tế bào hồng cầu ở phụ nữ có thai

Số liệu bảng 3.3 cho thấy nhìn chung các chỉ số trung bình về số lượng tế bào hồng cầu (RBC), huyết sắc tố (HGB), thể tích trung bình hồng cầu (MCV), huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCH) nằm trong giới hạn tham chiếu bình thường ở tất cả các đối tượng nghiên cứu theo từng nhóm tuổi thai. Tuy nhiên khi phân tích chỉ số huyết sắc tố (HGB) thì theo biểu đồ 3.2 và bảng 3.4, có 11,8% thai phụ (tương ứng với 1131 người) bị thiếu máu (có chỉ số $HGB < 110g/l$). Trong nhóm thai phụ có thiếu máu này, chỉ số trung bình huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCH) thấp hơn trị số tham chiếu của người bình thường và chỉ số trung bình thể tích trung bình hồng cầu (MCV) nằm trong giới hạn bình thường như kết quả ở bảng 3.4.

Năm 2009, Liao đã sử dụng chỉ số $MCV < 80fL$ để sàng lọc cho 449 phụ nữ có thai bị β -thalassemia trait khi đi khám thai ở Quảng Châu, Trung Quốc. Có 1,3% (6/449) các thai phụ có chỉ số MCV trong khoảng 80,3 đến 83,4fL. Trong khi đó 100% các thai phụ có chỉ số $MCH < 27pg$. Do đó Liao đã đề nghị

ưu tiên sử dụng chỉ số $MCH < 27\text{pg}$ hơn chỉ số $MCV < 80\text{fL}$ trong quá trình sàng lọc bệnh β -thalassemia ở phụ nữ có thai tại Quảng Châu [73]. Kết quả của nghiên cứu này cũng đồng thuận với đề xuất của Liao.

Phân tích đặc điểm thể tích trung bình hồng cầu (MCV) qua biểu đồ 3.3 ta được 95% các đối tượng nghiên cứu có chỉ số MCV nằm trong khoảng $90,3 \pm 3,6\text{ fL}$, giá trị này nằm trong khoảng tham chiếu của người bình thường. Nhóm sàng lọc dương tính (hồng cầu nhỏ hoặc nhược sắc) thì 95% các thai phụ này có chỉ số MCV nằm trong khoảng $78,0 \pm 7,3\text{ fL}$ - nhỏ hơn trị số tham chiếu của người bình thường (bình thường chỉ số MCV từ 80 đến 100fL). Nhóm phụ nữ có thai mang đột biến gen thalassemia thì chỉ số MCV còn nhỏ hơn nữa, 95% các thai phụ này có chỉ số MCV nằm trong khoảng $66,9 \pm 4,8\text{ fL}$, nhỏ hơn trị số tham chiếu của người bình thường. Theo biểu đồ 3.4 và bảng 3.5 ta thấy có 590 thai phụ (6,2%) có hồng cầu nhỏ ($MCV < 80\text{fL}$) nhưng trong nhóm này các chỉ số trung bình huyết sắc tố (HGB) và chỉ số huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCH) đều thấp hơn trị số tham chiếu của người bình thường. Như vậy trong quá trình sàng lọc bệnh thalassemia cho phụ nữ có thai cần chú ý hơn đến nhóm hồng cầu nhỏ ($MCV < 80\text{fL}$) trên xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi.

Bảng 3.16 chỉ ra mối liên quan giữa kết quả MCV và đột biến gen α -thalassemia cho thấy trong số 96 thai phụ mang đột biến gen α -thalassemia thì 67,7% thai phụ có chỉ số MCV từ 65 đến $74,9\text{fL}$; tỷ lệ có chỉ số MCV dưới 65fL là 28,2%. Chỉ có 1 thai phụ có chỉ số MCV trong ngưỡng tham chiếu của người bình thường là $81,1\text{fL}$, nhưng trường hợp này lại thiếu máu nặng phải truyền máu với chỉ số RBC là $2,85\text{ T/l}$; HGB là 60g/l và MCH là $21,1\text{ pg}$. Người này mang kiểu gen dị hợp tử SEA và Cs, biểu hiện kiểu hình của bệnh HbH phụ thuộc truyền máu.

Ngô Diễm Ngọc nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, kiểu gen của bệnh HbH và chẩn đoán trước sinh bệnh alpha thalassemia được kết quả là trong số 292 phụ nữ có thai mang gen α^0 -thalassemia có 25,7% thai phụ có chỉ số MCV < 65fL; 72,6% thai phụ có chỉ số MCV từ 65 đến dưới 80fL và 1,71% thai phụ có chỉ số MCV $\geq$ 80fL [74]. Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu của chúng tôi.

Bảng 3.18 cho thấy có 19 thai phụ mang đột biến gen β -thalassemia thì tất cả các thai phụ có chỉ số MCV dưới 80fL.

Nghiên cứu của Nguyễn Thị Ánh về thực trạng mang gen bệnh beta thalassemia trên 260 phụ nữ dân tộc thiểu số trong tuổi sinh đẻ (từ 15 đến 49 tuổi) ở huyện Chợ Mới, tỉnh Bắc Cạn năm 2017 đã kết luận 100% phụ nữ có mang gen bệnh beta thalassemia thì chỉ số MCV < 80fL [75]. Kết quả này tương tự kết quả của chúng tôi.

Nguyễn Khắc Hân Hoan nghiên cứu trên 1690 mẫu xét nghiệm của các thai phụ và chồng [19], kết quả là chỉ số MCV < 80fL có tỉ lệ phát hiện đột biến gen cao ở nhóm kiểu gen α -thalassemia 1 và β -thalassemia, tỉ lệ phát hiện này giảm đi ở nhóm đột biến α -thalassemia 2 và HbE.

Dựa trên các kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Ánh, Ngô Diễm Ngọc, Nguyễn Khắc Hân Hoan và kết quả nghiên cứu của chúng tôi, khuyến cáo một số ứng dụng trong thực hành lâm sàng khi xử lý kết quả xét nghiệm MCV như sau: tư vấn thai phụ xét nghiệm tìm đột biến gen thalassemia cho bản thân khi có chỉ số MCV < 80fL, đặc biệt chỉ số MCV ở ngưỡng $66,9 \pm 4,8$ fL. Vẫn có những người mang gen bệnh thalassemia mà chỉ số MCV $\geq$ 80fL, do đó khi gặp chỉ số MCV ở ngưỡng bình thường này vẫn cần khai thác thêm các yếu tố khác về tiền sử gia đình, tiền sử sản khoa cũng như bệnh sử và các triệu chứng lâm sàng để tư vấn cho thai phụ có cần xét nghiệm tìm đột biến gen thalassemia hay không.

Ở Việt Nam cũng như hầu hết các nước trên thế giới, trong phác đồ sàng lọc thalassemia vẫn dùng tiêu chuẩn $MCV \geq 80\text{fL}$ là bình thường. Tuy nhiên, mang thai là một trong các nguyên nhân có thể gây thiếu máu hồng cầu to nên việc áp dụng tiêu chuẩn $MCV < 80\text{fL}$ để sàng lọc bệnh thalassemia ở phụ nữ có thai có thể tăng tỷ lệ bỏ sót người mang gen bệnh.

Phân tích theo chỉ số huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCH) thì theo biểu đồ 3.5 ta được 95% các đối tượng nghiên cứu có chỉ số MCH nằm trong khoảng $30,3 \pm 1,1$ pg, giá trị này nằm trong khoảng tham chiếu của người bình thường. Nhóm sàng lọc dương tính (hồng cầu nhỏ hoặc nhược sắc) thì 95% các thai phụ này có chỉ số MCH nằm trong khoảng $25,4 \pm 2,7\text{pg}$ - nhỏ hơn trị số tham chiếu của người bình thường (bình thường chỉ số MCH từ 28 đến 32pg). Nhóm phụ nữ có thai mang đột biến gen thalassemia thì chỉ số MCH còn nhỏ hơn nữa, 95% các thai phụ này có chỉ số MCV nằm trong khoảng $21,6 \pm 1,8\text{pg}$, nhỏ hơn trị số tham chiếu của người bình thường. Theo biểu đồ 3.6 và bảng 3.6 ta thấy có 1226 thai phụ (chiếm 12,88%) có hồng cầu nhược sắc ($MCH < 28\text{pg}$), trong số này chỉ số trung bình huyết sắc tố (HGB) và chỉ số trung bình thể tích trung bình hồng cầu (MCV) thấp hơn trị số tham chiếu của người.

Bảng 3.17 và 3.19 cho kết quả là 100% các thai phụ mang đột biến gen thalassemia có chỉ số MCH dưới 28pg , tỷ lệ cao nhất ở ngưỡng từ 20 đến $23,9\text{pg}$ là 92,8% ở nhóm mang đột biến gen α -thalassemia và 36,8% ở nhóm mang đột biến gen β -thalassemia.

Nghiên cứu của Ngô Diễm Ngọc về đặc điểm lâm sàng, kiểu gen của bệnh HbH và chẩn đoán trước sinh bệnh α -thalassemia được kết quả là trong số 292 phụ nữ có thai mang gen α^0 -thalassemia có 0,3% thai phụ có chỉ số $MCH < 15\text{pg}$; 98,6% thai phụ có chỉ số MCH từ 15 đến dưới 27pg và 1,02% thai phụ có chỉ số $MCH \geq 27\text{pg}$ [74].

Như vậy trong quá trình sàng lọc bệnh thalassemia cho phụ nữ có thai cần chú ý hơn đến nhóm hồng cầu nhược sắc ($MCH < 28pg$) trên xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi. Nếu chỉ số MCH trong giới hạn bình thường là $MCH \geq 27pg$ thì vẫn cần khai thác thêm các yếu tố khác về tiền sử gia đình, tiền sử sản khoa cũng như bệnh sử và các triệu chứng lâm sàng để tư vấn cho thai phụ có cần xét nghiệm tìm đột biến gen thalassemia hay không.

Tác giả Mirzakhani M và cộng sự đã nghiên cứu chương trình sàng lọc bệnh thalassemia ở các cặp đôi có nguy cơ thấp với chỉ số xét nghiệm MCV từ 75 đến 80fl, MCH từ 26 đến 27pg, HbA₂ <3.5, và HbF <3. Xác định chẩn đoán bằng xét nghiệm di truyền. Đây là nghiên cứu cắt ngang được tiến hành tại 22 trung tâm ở tỉnh Esfahan- trung tâm của Iran từ năm 2012 đến 2016. Có 5624 người tham gia nghiên cứu. Kết quả độ nhạy của chương trình sàng lọc này là 99.7% nhưng độ đặc hiệu chỉ là 53.12%. Có 10 trường hợp (0.18%) bị thalassemia thể nhẹ có chỉ số $MCV \geq 80fl$ và $MCH \geq 26pg$, bao gồm 3 trường hợp (0.05%) mang đột biến gen phối hợp cả α và β -thalassemia, 7 trường hợp (0.12%) mang đột biến HbS. Trong số 553 trường hợp có chỉ số $MCV \geq 80fl$ và $MCH < 26pg$ chỉ có 1 trường hợp mang đột biến gen β -thalassemia. Kết luận là người có các chỉ số $MCV \geq 80$, $MCH > 26$, $HbA_2 < 3.2$, and $HbF < 3$ được coi là người có nguy cơ thấp bị bệnh thalassemia; tuy nhiên vẫn có tỷ lệ bỏ sót những trường hợp bị mang gen phối hợp cả α và β -thalassemia cũng như bệnh HbS[76].

Terence T. Lao nghiên cứu tại Hồng Kông năm 2016 đã phát hiện sự phối hợp đa dạng các đột biến gen thalassemia như phối hợp Hb Q-Thailand với α -thalassemia, Hb E với α - và β -thalassemia. Những người bệnh HbH có kiểu gen α -globin dị hợp tử phối hợp với các biến thể trên gen β -globin như Hb S, Hb C, and Hb E sẽ có kiểu hình tương tự như bệnh HbH. Ứng dụng sàng lọc trước sinh bằng các chỉ số thể tích trung bình hồng cầu ở ngưỡng dưới 80fL ($MVC < 80fL$) và huyết sắc tố trung bình hồng cầu ở ngưỡng dưới

27pg ($MCH < 27pg$) có thể phát hiện hầu hết các trường hợp α - and β -thalassemia. Đối với β -thalassemia thể nhẹ, sử dụng ngưỡng $MCV \leq 75fL$ và $MCH \leq 25pg$ là lựa chọn để sàng lọc tốt hơn. Những người sàng lọc dương tính sẽ được làm tiếp các xét nghiệm điện di huyết sắc tố và đột biến gen để chẩn đoán nếu cần [77].

Những bệnh nhân bị α -thalassemia thể nhẹ thường không có triệu chứng lâm sàng, chỉ có xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi có hồng cầu nhỏ, nhược sắc và xét nghiệm di truyền thấy có đột biến gen α -globin, điện di hemoglobin cho kết quả bình thường. Nhưng quan trọng là nếu chồng cũng bị α -thalassemia thì có nguy cơ con bị α -thalassemia thể nặng (bệnh Hb H) hoặc rất nặng (phù thai- Hb Bart's) [3].

Nghiên cứu tầm soát và chẩn đoán trước sinh bệnh alpha và beta thalassemia năm 2013 của Nguyễn Khắc Hân Hoan đã đưa ra kết luận [19] :

- Khi dùng tiêu chuẩn $MCV < 80fL$ thì tỷ lệ phát hiện người mang gen α -thalassemia và β -thalassemia là 88,9%, dương tính giả là 38,1%;
- Khi dùng tiêu chuẩn $MCH < 27pg$ thì tỷ lệ phát hiện người mang gen α -thalassemia và β -thalassemia là 95,6%, dương tính giả là 57,8%;
- Khi phối hợp tiêu chuẩn $MCV < 80fL$ hoặc $MCH < 27pg$ thì tỷ lệ phát hiện người mang gen α -thalassemia và β -thalassemia lên đến 96,4%, nhưng cũng tăng tỷ lệ dương tính giả lên 65%;
- Khi phối hợp tiêu chuẩn $MCV < 80fL$ và $MCH < 27pg$ thì tỷ lệ phát hiện người mang gen α -thalassemia và β -thalassemia giảm đi đồng thời cũng tăng tỷ lệ dương tính giả còn 30,8%.

Các nghiên cứu trên thế giới và ở Việt Nam cũng đưa ra một kết luận là phối hợp hai chỉ số MCV và MCH trong quá trình sàng lọc bệnh thalassemia là

cần thiết. Vì vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi áp dụng chỉ số sàng lọc dương tính là phối hợp tiêu chuẩn $MCV < 80\text{fL}$ hoặc $MCH < 28\text{pg}$ sẽ tăng tỉ lệ sàng lọc dương tính, do đó giảm tỷ lệ bỏ sót người mang gen không được tham gia tiếp cận đoán bệnh thalassemia. Những đối tượng 1237 phụ nữ có thai hồng cầu nhỏ hoặc nhược sắc (chiếm 13,9% tổng số đối tượng nghiên cứu) theo biểu đồ 3.1 cần được tiếp tục làm các xét nghiệm để chẩn đoán bệnh thalassemia cho thai. Tuy nhiên để giảm những xét nghiệm được chỉ định rộng rãi do tỷ lệ dương tính giả cao, chúng tôi dựa trên tiền sử bản thân thai phụ, tiền sử gia đình về bệnh thalassemia và tiền sử sản khoa của thai phụ có liên quan đến thalassemia (như có con bị bệnh hoặc mang gen bệnh thalassemia, tiền sử phù thai) để tư vấn cho thai phụ và gia đình tiếp tục làm các xét nghiệm chẩn đoán bệnh thalassemia cho bố mẹ và thai.

4.2. Phân tích kết quả chẩn đoán trước sinh thai mang gen bệnh thalassemia

Phân tích kết quả chẩn đoán trước sinh của 123 trường hợp chọn lọc trong nghiên cứu này chúng tôi tìm ra được một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và các mối liên quan.

Bảng 3.7 đã chỉ ra tuổi trung bình của những thai phụ này là $28,83 \pm 5,02$ tuổi, trong lứa tuổi sinh đẻ.

Theo bảng 3.8, đa số các thai phụ này là người dân tộc kinh, chiếm 66,7%; các dân tộc khác như Mường, Tày, Thái, Nùng chiếm tỷ lệ thấp từ 5,7 đến 12,2%. Vùng miền núi phía Bắc Việt Nam là vùng dịch tễ mắc bệnh thalassemia cao ở Việt Nam nhưng các kỹ thuật về chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia chưa tiếp cận được đến người dân, những người dân tộc có nguy cơ cao sinh con bị thalassemia được chẩn đoán trước sinh tại bệnh viện Phụ Sản Trung Ương còn ít.

4.2.1. Đặc điểm tế bào hồng cầu của các thai phụ mang đột biến gen

Theo bảng 3.9, trong 123 trường hợp chọc ối có 117 trường hợp được sàng lọc ở tuổi thai từ 13 đến 22 tuần, đây là tuổi thai thuận lợi cho chỉ định chọc ối.

Tỷ lệ thiếu máu ($HGB < 110g/l$) của các trường hợp chọc ối lên đến 64,2% (theo bảng 3.10). Nhóm có thiếu máu này, các chỉ số trung bình HGB, MCV, MCH đều thấp hơn trị số tham chiếu của người bình thường. Nhóm không thiếu máu ($HGB \geq 110g/l$) chiếm đến 35,8% nhưng vẫn có các chỉ số trung bình MCV, MCH đều thấp hơn trị số tham chiếu của người bình thường.

Một nghiên cứu ở Sri Lanka tiến hành từ tháng 1 năm 2015 đến tháng 9 năm 2016 nghiên cứu trên những phụ nữ trong độ tuổi sinh đẻ bị thiếu máu hoặc hồng cầu nhỏ, những bệnh nhân này được xét nghiệm điện di hemoglobin và xét nghiệm di truyền tìm đột biến gen globin, kết quả là một phần ba số phụ nữ thiếu máu trong tuổi sinh đẻ bị thalassemia thể nhẹ mà chủ yếu là α -thalassemia [78].

Như vậy, trong quá trình sàng lọc bệnh thalassemia ở phụ nữ có thai, chúng ta vẫn cần tập trung vào đối tượng có chỉ số hồng cầu nhỏ ($MCV < 80fL$), nhược sắc ($MCH < 28pg$) hơn là đối tượng thiếu máu ($HGB < 110 g/L$).

4.2.2. Kết quả xét nghiệm đột biến gen của mẹ

Như kết quả trình bày trong bảng 3.11, khi tư vấn và làm xét nghiệm đột biến gen globin của thai phụ, có 78% thai phụ mang gen α -thalassemia. Tỷ lệ mẹ mang gen α -thalassemia cao là do đa số những phụ nữ có tiền sử sinh con bị phù thai hoặc thai lần này bị phù thai đến khám tại bệnh viện Phụ Sản Trung Ương với mong muốn được chẩn đoán và điều trị bệnh cho thai. Nhưng thực tiễn thì đã chẩn đoán phù thai do bệnh Hb Bart's thì thai chết trong tử cung hoặc ngay sau đẻ mà chưa có giải pháp can thiệp điều trị nào hiệu quả. Trên thế giới, chỉ có một số rất ít trường hợp thai bị bệnh Hb Bart's đồng hợp tử α^0 được truyền máu từ

trong tử cung ở giai đoạn rất sớm ngay sau khi được chẩn đoán mắc bệnh thì có cơ hội được sinh mà không bị phù thai. Tuy nhiên sau khi sinh, các trẻ này tuy không có biểu hiện bất thường về thần kinh hay dị tật bẩm sinh, nhưng hầu hết có nguy cơ cao mắc các khiếm khuyết về hệ thống thận sinh dục và dị tật chi. Những trẻ này có thể điều trị bằng ghép tế bào gốc tạo máu [79]. Tuy nhiên, việc phải phụ thuộc truyền máu suốt đời cho em bé mắc bệnh và khó khăn trong điều trị ghép tế bào gốc là những yếu tố cần xem xét trong tư vấn di truyền chẩn đoán trước sinh cho các cặp vợ chồng có nguy cơ sinh con mắc bệnh Hb Bart's. Thêm vào đó những phụ nữ có thai bị Hb Bart's còn đối mặt với các biến chứng về sản khoa cho người mẹ như tiền sản giật, sản giật và băng huyết sau sinh.

Ngày nay với sự phát triển mạnh mẽ của công nghệ di truyền, có thể áp dụng kỹ thuật tìm ADN tự do trong máu mẹ để xác định bệnh giúp giảm thiểu các can thiệp có xâm lấn là sinh thiết gai rau và chọc ối đồng thời có thể chẩn đoán được thai mang gen α -thalassemia đồng hợp tử từ rất sớm trong quý 1 của thai kỳ. Điều này giúp cho các cặp vợ chồng mang gen α -thalassemia có thêm một lựa chọn để chẩn đoán sớm và xử trí sớm cho thai. Việc ngừng thai nghén sớm trong 3 tháng đầu sẽ giúp cho người phụ nữ giảm những biến chứng của thai kỳ cũng như những tai biến của thủ thuật [80], [81].

Cũng theo bảng 3.11 có 9,8% thai phụ mang gen β -thalassemia, có 6,5% thai phụ mang gen phối hợp α , β và HbE. Tỷ lệ này thấp là do những người mắc bệnh β -thalassemia không có biểu hiện bệnh lý khi còn trong bào thai như bệnh phù thai Hb Bart's (α -thalassemia thể nặng) mà chỉ biểu hiện sau khi sinh vài tháng (đối với β -thalassemia thể nặng) hoặc vài năm; vì vậy các gia đình chỉ đưa con đi khám và điều trị khi có biểu hiện bệnh mà không biết đi để sàng lọc và chẩn đoán trước sinh. Việc chẩn đoán trước sinh với người mắc bệnh β -thalassemia là rất quan trọng và hiệu quả vì hai lý do. Thứ nhất chẩn đoán trước

sinh sớm những thai bị bệnh β -thalassemia thể nặng có thể tư vấn ngừng thai nghén để tránh sinh ra những em bé bệnh nặng phải điều trị truyền máu và thải sắt suốt đời, chất lượng cuộc sống thấp, tỷ lệ tử vong còn cao. Lý do thứ hai là nếu thai lần này không mang gen β -thalassemia thì tư vấn thai phụ và gia đình lưu trữ tế bào gốc máu cuống rốn ngay khi sinh để dùng tế bào gốc này điều trị cho những thành viên khác trong gia đình mắc bệnh β -thalassemia thể nặng nếu có chỉ định. Cơ hội lưu trữ máu cuống rốn là duy nhất ở thời điểm sau khi sổ thai và trước khi sổ rau, chi phí lưu trữ máu cuống rốn còn cao nên thai phụ và gia đình cần có thông tin trước sinh để quyết định.

4.2.3. Phân bố đột biến gen của thai phụ

Phân tích kết quả phân bố đột biến gen của thai phụ như bảng 3.12 cho thấy số trường hợp thai phụ có mang đột biến gen SEA chiếm tỷ lệ rất cao, tổng cộng có 101 trường hợp mang đột biến SEA đơn thuần hoặc phối hợp với các đột biến khác. Chỉ có hai trường hợp thai phụ có biểu hiện bệnh HbH phụ thuộc truyền máu với kiểu gen một người là dị hợp tử SEA và Cs, một người là dị hợp tử SEA, Cs và dị hợp tử CD26. Các trường hợp còn lại không có biểu hiện lâm sàng, chỉ chẩn đoán được nhờ sàng lọc dương tính và xét nghiệm di truyền tìm đột biến gen. Nếu chồng của những người phụ nữ này cũng mang gen đột biến SEA thì mỗi lần có thai cặp vợ chồng có nguy cơ 25% sinh con bị phù thai Hb Bart's, như vậy lần nào có thai họ cũng nên chẩn đoán trước sinh cho thai.

Một nghiên cứu ở Đại học Khon Kaen, Thái Lan công bố năm 2017 đã đưa ra nhận định rằng dị hợp tử đột biến SEA là đột biến gen thalassemia hay gặp nhất ở Đông Nam Á và Trung Quốc. Do nguy cơ phù thai khi thai phụ và chồng cùng mang đột biến SEA mà việc chẩn đoán trước sinh phải làm thường quy ở những người mang đột biến này [82].

4.2.4. Kết quả đột biến gen của thai

Khi chọc ối làm xét nghiệm di truyền tìm đột biến gen thalassemia cho 123 trường hợp, kết quả thu được (biểu đồ 3.7) là tỷ lệ thai mang gen α -thalassemia cao nhất chiếm 61% (75 trường hợp), thai mang gen β -thalassemia chiếm 7,3% (có 9 trường hợp), thai mang phối hợp kiểu gen chiếm 8,9 % (có 11 trường hợp), bệnh huyết sắc tố E có 2 trường hợp (chiếm 1,6%) và 26 trường hợp thai không mang gen bệnh thalassemia (tương ứng 21,1%). Nghiên cứu của Nguyễn Khắc Hân Hoan và cộng sự nhằm tầm soát và chẩn đoán trước sinh đột biến gen thalassemia tại bệnh viện Từ Dũ đã phát hiện được 65,8% thai mang đột biến α -thalassemia, tương tự với kết quả của nghiên cứu của chúng tôi [64].

Theo bảng 3.13 trong số 75 trường hợp thai mang đột biến gen α -thalassemia có 35 trường hợp thể nặng (chiếm 28,6%) mang kiểu gen đồng hợp tử SEA. Những trường hợp thai mang kiểu gen đồng hợp tử đột biến SEA này bị đột biến cả 4 gen α -thalassemia nên không có khả năng tổng hợp chuỗi α globin. Khi mức tổng hợp chuỗi α globin giảm dưới 70%, thì chuỗi γ globin được tăng tổng hợp từ thời kỳ bào thai, tạo γ_4 là Hb Bart's, có thể được phát hiện khi điện di Hemoglobin ở giai đoạn ngay sau khi sinh [83], [84]. Đây là những trường hợp biểu hiện lâm sàng là bệnh phù thai Hb Bart's, thai sẽ chết trong tử cung hoặc chết ngay sau sinh, mẹ nguy cơ tiền sản giật và băng huyết sau sinh [85]. Thai phụ và gia đình được tư vấn ngừng thai nghén cho lần có thai này cũng như tư vấn về bệnh lý α -thalassemia và giải pháp cho lần có thai sau tùy thuộc vào tiền sử sản khoa của từng gia đình. Tỷ lệ thai bị phù thai Hb Bart's cho mỗi lần có thai của các gia đình này là 25% theo quy luật di truyền. Khuyến thai phụ và chồng nên đi chọc ối chẩn đoán bệnh thalassemia sớm ở lần có thai sau. Giải pháp này cũng chỉ giúp chẩn đoán sớm kiểu gen của thai để xử trí sớm, không giúp dự phòng để không sinh ra những trẻ mang đột biến

gen thể nặng. Theo các nghiên cứu quốc tế, hầu hết các trường hợp thai được chẩn đoán xác định mắc Hb Bart's đều có chỉ định đình chỉ thai nghén nếu gia đình có nguyện vọng. Chỉ có một số rất ít trường hợp khi thai được truyền máu từ trong tử cung ở giai đoạn rất sớm ngay sau khi được chẩn đoán mắc Hb Bart's đồng hợp tử α^0 , thì có cơ hội được sinh mà không bị phù thai. Trong nghiên cứu của Ngô Diễm Ngọc về đặc điểm lâm sàng, kiểu gen của bệnh HbH và chẩn đoán trước sinh bệnh alpha thalassemia có phát hiện được một trẻ 4 tuổi mắc bệnh Hb Bart's mang kiểu gen đồng hợp tử đột biến α^0 -thalassemia ($--^{SEA}/--^{SEA}$) [74]. Giải pháp hiệu quả hơn để những gia đình này không mang thai bị kiểu gen đồng hợp tử đột biến α^0 -thalassemia là làm thụ tinh trong ống nghiệm với những phôi được chẩn đoán di truyền trước chuyển phôi. Quá trình này phức tạp và chi phí tốn kém vì hai vợ chồng phải làm thụ tinh trong ống nghiệm, sinh thiết phôi để chẩn đoán loại trừ phôi mang bệnh thalassemia sau đó mới chuyển phôi vào tử cung người vợ. Những phôi này làm tổ được và phát triển được trong tử cung thành thai nhi đủ tháng thì gia đình mới có cơ hội đón về nhà một trẻ khỏe mạnh không bị bệnh thalassemia.

40 trường hợp còn lại mang kiểu gen dị hợp tử SEA (34 trường hợp), $\alpha^{3.7}$ hoặc $\alpha^{4.2}$ - biểu hiện kiểu hình là α -thalassemia thể nhẹ hoặc thể ẩn, hoặc dị hợp tử kép SEA và $\alpha^{3.7}$ hoặc $\alpha^{4.2}$ - biểu hiện kiểu hình là bệnh HbH. Do sự phối hợp giữa các allele α^0 -thalassemia và α^+ -thalassemia, tạo nhiều kiểu gen khác nhau, dẫn đến bệnh α -thalassemia có kiểu hình đa dạng. Việc chẩn đoán xác định bệnh và thể bệnh α -thalassemia dựa trên phân tích gen HBA có vai trò quan trọng trong điều trị, tiên lượng, tư vấn di truyền. [47]. Những trường hợp này tư vấn tiếp tục theo dõi thai kỳ. Tư vấn cho các gia đình có con mang kiểu gen dị hợp tử SEA, $\alpha^{3.7}$ hoặc $\alpha^{4.2}$ sau này đi sàng lọc bệnh thalassemia tiền hôn nhân hoặc sàng lọc trước sinh. Các gia đình có con mang kiểu gen bệnh HbH thì cần khám chuyên khoa Huyết học sớm cho trẻ sau sinh, không

cần ngừng thai nghén vì nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng không tìm thấy mối tương quan giữa kiểu hình bệnh HbH phụ thuộc truyền máu và kiểu gen của bệnh này [86], [87], [88].

Trong số 9 trường hợp thai mang gen β -thalassemia có 4 trường hợp thể nặng với kiểu gen là đồng hợp tử β^0 -thalassemia như đột biến CD17, dị hợp tử kép β^0 -thalassemia giữa CD17, CD41/42, CD 71/72; những trẻ mang kiểu gen này có biểu hiện kiểu hình là β -thalassemia thể nặng, phải điều trị truyền máu và thải sắt suốt đời. Bốn trường hợp này gia đình cần được tư vấn kỹ về biểu hiện bệnh lý và theo dõi điều trị sau này. Nếu gia đình và thai phụ có nguyện vọng ngừng thai nghén thì cần nhắc các yếu tố sản khoa như tình trạng thai non tháng không có khả năng sống nếu ngừng thai, tình trạng của mẹ để tư vấn gia đình chọn giải pháp. Nếu thai phụ và gia đình mong muốn tiếp tục giữ thai thì được tư vấn khám và điều trị cho trẻ sớm sau sinh vì những trẻ bị β -thalassemia thể nặng có thể có biểu hiện lâm sàng sớm từ những tháng đầu đời. Việc điều trị sớm sẽ giúp giảm những biến chứng của bệnh β -thalassemia thể nặng cho trẻ sau này. Sáu trường hợp còn lại mang kiểu gen dị hợp tử β^0 -thalassemia như CD17, CD41/42, CD71/72 hoặc có phối hợp với dị hợp tử β^+ -thalassemia như -28, IVS1-1; có biểu hiện kiểu hình là β -thalassemia thể trung gian hoặc thể nhẹ sẽ được tư vấn giữ thai, sau này sàng lọc bệnh thalassemia tiền hôn nhân và sàng lọc trước sinh cho các trẻ khi đến tuổi thành niên và lập gia đình.

Có hai trường hợp mang kiểu gen dị hợp tử CD26 biểu hiện kiểu hình là β -thalassemia thể nhẹ, không có triệu chứng lâm sàng, chỉ phát hiện ra bệnh khi làm các xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi, điện di huyết sắc tố và tìm đột biến gen, tư vấn thai phụ và gia đình tiếp tục theo dõi thai.

Có 11 trường hợp kiểu gen phối hợp tức là kết quả xét nghiệm di truyền thai mang từ hai loại đột biến gen trong các đột biến gen α -thalassemia và

β -thalassemia và bệnh huyết sắc tố E. Có 1 trường hợp thai mang đột biến gen có biểu hiện kiểu hình là α -thalassemia thể nặng, kiểu gen là đồng hợp tử đột biến gen SEA phối hợp với đột biến CD26, có biểu hiện kiểu hình là phù thai Hb Bart's và năm trường hợp mang kiểu gen đột biến dị hợp tử β^0 -thalassemia phối hợp với đột biến CD26 có biểu hiện kiểu hình là β -thalassemia thể nặng.

Như vậy, theo biểu đồ 3.7, tổng số trường hợp thai mang kiểu gen α -thalassemia thể nặng nên ngừng thai nghén là 36 trường hợp- chiếm 29,3%; tổng số trường hợp thai mang kiểu gen β -thalassemia thể nặng – nếu trẻ sinh sống thì con cần điều trị truyền máu và thải sắt suốt đời - là 9 trường hợp- chiếm 7,3%; tổng số trường hợp thai mang kiểu gen thể nhẹ nên tiếp tục theo dõi thai là 52 trường hợp- chiếm 42,3%. Có 26 trường hợp thai không mang gen bệnh- tiếp tục giữ thai và nên lưu trữ tế bào máu cuống rốn khi sinh, chiếm 21,1%. Tỷ lệ phát hiện thai mang kiểu gen thalassemia thể nặng là 21,4% trong nghiên cứu của Nguyễn Khắc Hân Hoan và cộng sự nhằm tầm soát và chẩn đoán trước sinh đột biến gen thalassemia tại bệnh viện Từ Dũ, thấp hơn trong nghiên cứu của chúng tôi là 29,3% thai mang kiểu gen α -thalassemia thể nặng và 7,3% thai mang kiểu gen β -thalassemia thể nặng [64].

So sánh với nghiên cứu của Ching-Tien Peng và cộng sự ở Đài Loan, nghiên cứu chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia và bệnh hemoglobin ở những trường hợp thai nghén có nguy cơ cao bị phù thai alpha thalassemia và bị beta thalassemia nặng trong thời gian từ 1998 đến 2011, kết quả chẩn đoán trước sinh là: 21,5% thai bị thalassemia nặng (bao gồm phù thai alpha thalassemia, beta thalassemia nặng và Hb E/ β -thalassemia)- kết quả này trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn (30,8% thai mang kiểu gen α -thalassemia thể nặng và 7,5% thai mang kiểu gen β -thalassemia thể nặng); 50,2% thalassemia nhẹ và 28,3%

không bị thalassemia- cao hơn kết quả của chúng tôi là 41,3% và 20,3%. Từ năm 1993, Bộ Y tế Đài Loan đã cho triển khai một chương trình sàng lọc phụ nữ có thai để kiểm soát sự lan tràn của thalassemia, kết quả là từ năm 2003 có 4 năm không có người mắc mới thalassemia là năm 2003, 2004, 2007 và 2008 [68].

Đài Loan đã tiến hành nghiên cứu Sự chuyển đổi dịch tễ học bệnh thalassemia ở miền nam nước này trong 10 năm từ 2003 đến 2012 sau khi triển khai chương trình quốc gia phòng chống bệnh thalassemia thể nặng năm 1993, kết quả là kiểu gen đột biến bệnh α -thalassemia phổ biến nhất là dị hợp tử đột biến SEA chiếm 69,4%, kiểu gen β -thalassemia phổ biến nhất là IVS-II-654 (46,2%) và HbE (2,2%) [89].

Việt Nam với tỷ lệ phát hiện bệnh thalassemia thể nặng của chúng tôi cao hơn thì theo quan điểm của chúng tôi rất cần triển khai chương trình sàng lọc phụ nữ có thai để kiểm soát sự lan tràn của thalassemia một cách rộng rãi ở tất cả các cơ sở khám chữa bệnh, đặc biệt là ở những vùng dịch tễ mắc bệnh thalassemia với tỷ lệ cao. Một thuận lợi để chúng ta có thể triển khai sàng lọc rộng rãi là các cơ sở khám chữa bệnh của Việt Nam từ tuyến huyện trở lên đều có sẵn máy xét nghiệm cho phép thực hiện xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi. Vấn đề là người phụ nữ có thai đến các cơ sở khám chữa bệnh sản khoa và cần được các bác sĩ sản khoa tư vấn cho sàng lọc sớm từ khi có thai.

Theo nghiên cứu của Ketong Lai và cộng sự tại Trung Quốc, tỷ lệ lưu hành bệnh thalassemia không ổn định, nhìn chung tỷ lệ α -thalassemia là 7.88%, β -thalassemia là 2.21% và phối hợp $\alpha + \beta$ -thalassemia chiếm 0.48%. Bản đồ tỷ lệ lưu hành bệnh phụ thuộc vào hệ thống thông tin địa lý; tỷ lệ lưu hành bệnh ở miền nam Trung Quốc nhiều hơn miền Bắc. Nhóm đột biến gen phổ biến nhất là --SEA và CD 41/42 [90]. Trong nghiên cứu của chúng tôi nhóm gen phổ biến nhất của thai là đồng hợp tử SEA (40 trường hợp-30,08%) và dị

hợp tử SEA (34 trường hợp-25,56%). Số trường hợp phát hiện mang đột biến gen β -thalassemia và phối hợp cả α -thalassemia và β -thalassemia còn hạn chế.

4.2.5. Xét nghiệm sắt huyết thanh và ferritin huyết thanh

Theo biểu đồ 3.8 thì 95% các thai phụ này có chỉ số sắt huyết thanh nằm trong khoảng $17,87 \pm 7,7 \mu\text{mol/l}$, khoảng này nằm trong ngưỡng tham chiếu của người bình thường và theo biểu đồ 3.9 thì 95% các thai phụ này có chỉ số Ferritin huyết thanh nằm trong khoảng $76,9 \pm 80,9 \mu\text{g/l}$, khoảng này nằm trong ngưỡng tham chiếu của người bình thường. Đối với người bị bệnh thalassemia thể trung gian và thể nặng với hội chứng thiếu máu tan máu rõ, đặc biệt là phải truyền máu thì thường bị thừa sắt, do đó khi xét nghiệm mới có biểu hiện tăng sắt huyết thanh và ferritin huyết thanh. Xét nghiệm sắt huyết thanh và ferritin huyết thanh có giá trị đánh giá mức độ thiếu sắt hay thừa sắt để điều trị, không có giá trị để sàng lọc hay chẩn đoán xác định người mang gen thalassemia.

Tỷ lệ sắt huyết thanh bình thường trong tất cả các nhóm có kết quả chọc ối đều trên 72% (như bảng 3.16 đã chỉ ra) còn tỷ lệ ferritin huyết thanh bình thường trong tất cả các nhóm có kết quả chọc ối đều trên 55% (theo bảng 3.17).

Ferritin là một protein vận chuyển sắt, là dạng dự trữ sắt chủ yếu của cơ thể được lưu trữ bên trong các tế bào. Lượng nhỏ ferritin lưu hành trong máu phản ánh tổng lượng sắt lưu trữ trong cơ thể. Ferritin huyết thanh tăng khi cơ thể ứ sắt và giảm khi cơ thể thiếu sắt. Ngoài ra, Ferritin còn tăng trong trường hợp viêm nhiễm mãn tính (không mang sắt). Sắt huyết thanh tăng trong các trường hợp: dùng quá nhiều sắt, nhiễm sắc tố sắt, tăng sự phá hủy hồng cầu (thiếu máu tan máu, sốt đái ra huyết sắc tố), các bệnh gan cấp tính, viêm gan, viêm thận, thiếu máu tăng sắc. Sắt huyết thanh giảm trong các

trường hợp: mất máu (phẫu thuật, đẻ, chảy máu kéo dài...), thiếu máu nhược sắc, thiếu máu ác tính, giảm hấp thu sắt, các nhiễm trùng cấp và mạn tính.

Nghiên cứu của Nguyễn Khắc Hân Hoan năm 2013 tầm soát 446 thai phụ dương tính với bệnh thalassemia và chồng của họ cũng chỉ ra chỉ số Ferritin trung bình ở thai phụ là 76,1 ng/mL, nằm trong ngưỡng bình thường với độ lệch chuẩn khá lớn [19].

Như vậy để tối ưu hóa giá trị của xét nghiệm sắt huyết thanh và ferritin huyết thanh, không nên chỉ định rộng rãi hai xét nghiệm này trong quá trình sàng lọc bệnh thalassemia. Bởi vì sắt huyết thanh và ferritin huyết thanh thường tăng trong những trường hợp quá tải sắt, đối với người bệnh thalassemia là những trường hợp tan máu trung bình hoặc nặng và có truyền máu nhiều lần. Những trường hợp bệnh thalassemia thể nhẹ vẫn có chỉ số xét nghiệm sắt huyết thanh và ferritin huyết thanh bình thường, thậm chí giảm nếu kết hợp với bệnh thiếu máu thiếu sắt. Do vậy, chỉ nên chỉ định khi có triệu chứng lâm sàng để giúp chẩn đoán mức độ bệnh nhằm đề ra những giải pháp điều trị cho người bệnh.

4.2.6. Xét nghiệm điện di huyết sắc tố

Theo bảng 3.21, có 52 thai phụ khi điện di huyết sắc tố có kết quả trong giới hạn bình thường thì 51 người mang gen α - thalassemia, 1 người mang gen β - thalassemia. Điều này phù hợp với triệu chứng cận lâm sàng của bệnh α - thalassemia thể ẩn và thể nhẹ. Có 19 trường hợp điện di huyết sắc tố bất thường thì 4 người mang gen α - thalassemia, 5 người mang gen β - thalassemia và 10 người mang gen HbE hoặc phối hợp các nhóm gen α - thalassemia, β - thalassemia, HbE.

Xét nghiệm điện di huyết sắc tố có giá trị định hướng xét nghiệm di truyền tìm đột biến gen α - thalassemia hay β - thalassemia. Nếu điện di huyết sắc tố thấy bình thường hoặc xuất hiện HbH, Hb Bart's, HbCs, HbQs thì định

hướng tìm đột biến gen α - thalassemia, không thể dựa vào tỉ lệ HbA1 và HbA2 để sàng lọc và chẩn đoán người mang gen α -thalassemia; nếu điện di huyết sắc tố thấy HbA1 giảm, HbA2 tăng, HbF tăng, hoặc xuất hiện HbE thì định hướng tìm đột biến gen β – thalassemia. Tuy nhiên làm như vậy vẫn bỏ sót những trường hợp mang phối hợp nhiều đột biến gen cả nhóm α -thalassemia, β - thalassemia và bệnh huyết sắc tố E. Khi xét nghiệm điện di Hb thấy HbA2>3,5% hoặc sự xuất hiện của HbE cũng chỉ là một chỉ số đặc hiệu gợi ý cho người mang gen β hoặc β^E , nhưng không có chỉ số nào đặc hiệu cho người mang gen α -thalassemia, ngay cả khi có sự kết hợp giữa (α^0/β) hoặc α^0/β^E . Vì thế, α -thalassemia có thể bị bỏ sót trong quá trình sàng lọc và chẩn đoán. Năm 2006, Li kết luận α -thalassemia có thể bị che giấu và bỏ sót khi kết hợp với β thalassemia [91]. Nếu làm xét nghiệm tìm cả đột biến gen α -thalassemia và β - thalassemia thì tăng chi phí xét nghiệm cho người bệnh. Thầy thuốc sẽ căn cứ vào tiền sử bản thân và gia đình, tiền sử sản khoa, các triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng để chỉ định xét nghiệm hợp lý nhất cho người bệnh.

Sàng lọc bệnh thalassaemia ở phụ nữ có thai nhằm phát hiện những phụ nữ có thai có nguy cơ mang gen bệnh. Những phương pháp xét nghiệm thông thường bao gồm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi và điện di hemoglobin để đo lường lượng HbA2 và HbF giúp nhận ra các biến thể của hemoglobin. Để khẳng định chẩn đoán vẫn phải làm xét nghiệm xác định kiểu gen bệnh thalassaemia [62].

Một nghiên cứu mù đôi so sánh kết quả chẩn đoán người mang gen thalassemia ở 951 người lớn trước kết hôn tại Trung Quốc trên nhóm người dân tộc Dai- là nhóm người có tỷ lệ mắc bệnh thalassemia cao: so sánh phương pháp truyền thống (bao gồm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi, điện di huyết sắc tố,

sau đó giải trình tự gen) và phương pháp giải trình tự gen thế hệ mới cho kết quả là phương pháp giải trình tự gen thế hệ mới phát hiện được tỷ lệ người mang gen là 49,5%, trái lại phương pháp truyền thống chỉ phát hiện được 22%. Phương pháp truyền thống đã không phát hiện được 74.8% (217/290) các trường hợp mang gen α -thalassemia và 30.5% (25/82) trường hợp phối hợp mang gen cả α và β -thalassemia [48]. Nguyên nhân là do những trường hợp mang gen α -thalassemia và phối hợp mang gen cả α và β -thalassemia không có biểu hiện lâm sàng, có biểu hiện điện di Hb bình thường và xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi có thể không phát hiện bất thường. Do đó phương pháp truyền thống chỉ giải trình tự gen trên những người có cả 2 xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi và điện di Hb bất thường thì tỷ lệ phát hiện gen bất thường sẽ thấp hơn.

Tại Việt Nam, quy trình sàng lọc và chẩn đoán truyền thống này hiện giờ vẫn phù hợp với ba lý do. Thứ nhất là hiểu biết của người dân về bệnh thalassemia còn hạn chế, nếu bệnh không có biểu hiện lâm sàng gây ảnh hưởng đến sức khỏe và cuộc sống thì người dân khó chấp nhận việc đi làm các xét nghiệm sàng lọc bệnh thalassemia. Thứ hai là kiến thức sâu về giá trị các xét nghiệm để sàng lọc và chẩn đoán bệnh thalassemia chỉ phổ biến ở các bác sĩ chuyên ngành huyết học, hiểu biết đó còn hạn chế ở các bác sĩ chuyên ngành khác, ví dụ như chuyên ngành sản khoa, do vậy mà hạn chế thông tin để xử lý kết quả xét nghiệm và tư vấn cho người bệnh khi đến khám ở một chuyên ngành không phải huyết học. Thứ ba là xét nghiệm di truyền để chẩn đoán bệnh thalassemia kỹ thuật phức tạp, chi phí cao hơn và đòi hỏi có bác sĩ di truyền để trả lời kết quả nên không phổ biến ở các cơ sở khám chữa bệnh như hai xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi và điện di Hb.

4.2.7. Kết quả siêu âm thai và tiền sử phù thai

Nghiên cứu kết quả siêu âm thai theo bảng 3.21 cho thấy có 79,7% các trường hợp có kết quả siêu âm thai bình thường; 11,4% các trường hợp có siêu âm là phù thai và 8,9% các trường hợp siêu âm có những bất thường khác về hình thái thai. Siêu âm chẩn đoán phù thai buộc thầy thuốc phải đi tìm nguyên nhân của bệnh và α -thalassemia đồng hợp tử là một trong các nguyên nhân. Ngoài ra các hình ảnh siêu âm khác không gợi ý thêm được các dấu hiệu gì cho quá trình sàng lọc trước sinh bệnh thalassemia.

Theo bảng 3.22, trong số 98 thai phụ có kết quả siêu âm thai bình thường thì 23 thai có kết quả không mang đột biến gen thalassemia, 53 thai mang đột biến gen α -thalassemia, 9 thai mang đột biến gen β -thalassemia và 13 thai mang gen phối hợp. Có 14 trường hợp siêu âm là phù thai thì cả 14 trường hợp này khi chọc ối xét nghiệm đột biến gen cho thai đều có kết quả là đồng hợp tử đột biến SEA, kết quả siêu âm phù hợp với kết quả đột biến gen của thai.

Theo bảng 3.23, tiền sử sản khoa của 123 thai phụ được chọc ối chẩn đoán đột biến gen thalassemia cho thai, có 19 người (tương ứng với 15,4%) có con đã được chẩn đoán mang gen bệnh thalassemia. Chắc chắn những người này nên được làm chẩn đoán trước sinh cho mỗi lần mang thai để chẩn đoán xem thai có bị mang gen thalassemia không và kiểu gen như thế nào để được tư vấn di truyền. Thai phụ nên được tư vấn chọc ối sớm từ thai 16 tuần. Nếu thai mang kiểu gen bệnh phù thai Hb Bart's thì tư vấn cho thai phụ ngừng thai nghén sớm khi chưa có biểu hiện tiền sản giật hay phù thai, sẽ giúp giảm tai biến sản khoa là sản giật và băng huyết sau sinh. Nếu thai mang kiểu gen bệnh β -thalassemia thể nặng thì tư vấn kỹ về tương lai của trẻ phải điều trị bệnh suốt đời bằng truyền máu và thải sắt, chất lượng cuộc sống giảm để gia đình và thai phụ có quyết định tiếp tục theo dõi thai hay ngừng thai nghén. Nếu thai không mang gen bệnh thì

tư vấn thai phụ và gia đình lưu trữ máu cuống rốn ngay khi sinh để có thể tách tế bào gốc điều trị cho anh/ chị hoặc người thân trong gia đình khi có chỉ định.

Cũng theo bảng 3.23, trong số 123 trường hợp được chọn ôi tìm đột biến gen cho thai thì có đến 52% (64 trường hợp) có tiền sử phù thai. Theo bảng 3.25, trong số những phụ nữ này có tiền sử phù thai này, 45 thai phụ tiền sử 1 lần phù thai thì lần này 15 trường hợp tiếp tục phù thai do thai mang đồng hợp tử đột biến gen SEA, 19 thai phụ tiền sử 2 lần phù thai thì 10 trường hợp lần thứ 3 bị phù thai.

Phù thai là một trường hợp thai nghén nguy cơ cao cả cho mẹ và cho thai. Phù thai có thể do nhiều nguyên nhân như nhiễm trùng, miễn dịch, di truyền. Phù thai Hb Bart's do thai nhận cả 4 gen HBA bị đột biến từ bố và mẹ thì cho đến nay chưa có giải pháp điều trị hiệu quả, kết cục vẫn là thai chết trong tử cung hoặc chết ngay sau đẻ. Nguyên nhân thai chết là do cơ chế bệnh sinh. Khi 4 gen HBA bị đột biến thì cơ thể không sản xuất được chuỗi α globin để tham gia tạo thành HbA bình thường, thay vào đó cơ thể tăng sản xuất γ globin. Bốn phân tử γ globin (γ_4) kết hợp với nhau tạo thành hemoglobin Bart's không có khả năng vận chuyển oxy, do đó không duy trì được sự sống. Siêu âm chẩn đoán phù thai và tiền sử phù thai vẫn là một trong các lý do hay gặp dẫn người bệnh đến khám sàng lọc và chẩn đoán trước sinh tại bệnh viện Phụ Sản Trung Ương. Đứng trước những trường hợp này, nhiệm vụ của các bác sĩ sản khoa là tìm cách chẩn đoán nguyên nhân phù thai. Nếu nguyên nhân phù thai do đột biến gen cả 4 gen HBA thì tư vấn cho thai phụ và gia đình ngừng thai nghén sớm để tránh diễn biến nặng cho mẹ là tiền sản giật, sản giật.

Một khó khăn nữa cho các cặp vợ chồng có nguy cơ sinh con bị phù thai Hb Bart's là vấn đề dự phòng để không sinh ra những trẻ phù thai. Nguy cơ sinh con bị phù thai của các cặp vợ chồng mang gen này là 25% trong mỗi một lần

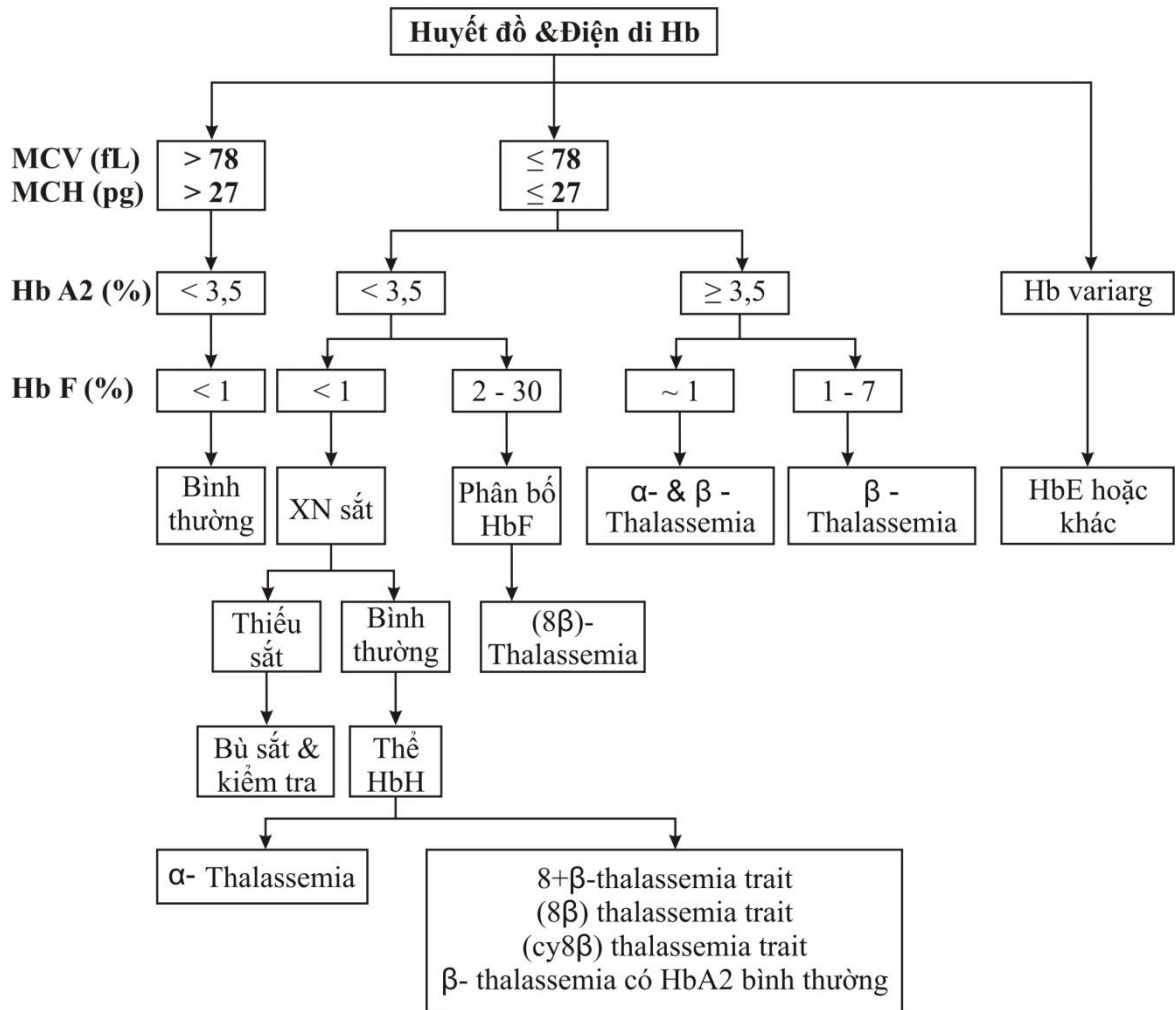
sinh. Giải pháp duy nhất cho đến nay để dự phòng là cặp vợ chồng làm thụ tinh trong ống nghiệm và sinh thiết phôi chẩn đoán di truyền loại trừ bệnh Hb Bart's đồng hợp tử α^0 trước khi chuyển phôi vào trong buồng tử cung người mẹ. Tuy nhiên cả quá trình từ thụ tinh trong ống nghiệm, sinh thiết phôi chẩn đoán, chuyển phôi vào buồng tử cung, cho đến thụ thai được và sinh ra một em bé khỏe mạnh là một quy trình rất tốn kém và tiền bạc và thời gian.

4.3. Bàn luận về quy trình sàng lọc và chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia ở phụ nữ có thai.

4.3.1. Bàn luận về quy trình sàng lọc và chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia qua nghiên cứu này

Thalassemia là một vấn đề sức khỏe mang tính toàn cầu. Quản lý bệnh thalassemia bao gồm dự phòng để không sinh ra những trường hợp bệnh mới mắc và điều trị các bệnh nhân đang mắc bệnh. Tuy nhiên điều trị và quản lý những người mắc bệnh nặng đã và đang đòi hỏi rất nhiều nguồn lực từ gia đình người bệnh và xã hội. Dự phòng để không sinh ra những trường hợp bệnh mới mắc có hai phương pháp. Một là kiểm soát người mang gen bệnh trong cộng đồng và tư vấn tiền hôn nhân. Kiểm soát người mang gen trong cộng đồng là việc khó khả thi. Tư vấn tiền hôn nhân cũng không ngăn được người ta kết hôn mà chỉ để các cặp vợ chồng nguy cơ cao có kiến thức về bệnh thalassemia và cần đến các cơ sở y tế có đủ năng lực để chẩn đoán trước sinh khi mang thai. Hai là sàng lọc và chẩn đoán trước sinh nhằm phòng ngừa việc sinh ra các trường hợp mắc bệnh mới. Nhiều quốc gia có tần suất mắc bệnh thalassemia cao như Ý, Hy Lạp, Thái Lan, Hồng Kông đã triển khai các chương trình phòng chống bệnh rất thành công thông qua việc sàng lọc và chẩn đoán trước sinh.

Hy Lạp là một quốc gia ở vùng Địa Trung Hải có tỷ lệ người mang gen bệnh thalassemia rất cao. Mô hình phòng chống thalassemia rất thành công của Hy Lạp thực hiện sàng lọc phụ nữ mang thai và chẩn đoán trước sinh với những người có kết quả sàng lọc dương tính như sơ đồ dưới đây.



Sơ đồ 4.1: Quy trình sàng lọc và chẩn đoán thalassemia tại Hy Lạp

“Nguồn: Cao, 2002” [92]

Tại Việt Nam, quá trình sàng lọc và chẩn đoán trước sinh được tiến hành ở các bệnh viện chuyên ngành Phụ Sản. Sau khi sàng lọc ra những cặp vợ chồng có nguy cơ cao sinh con mắc bệnh thalassemia thì thai phụ và gia

đình sẽ được chuyển lên trung tâm Chẩn đoán trước sinh để được các chuyên gia về di truyền tư vấn các xét nghiệm đột biến gen cần làm để chẩn đoán.

Sàng lọc bệnh thalassemia là quá trình nhận diện những người có nguy cơ cao bị bệnh hoặc mang gen bệnh. Qua kết quả sàng lọc, người có nguy cơ cao này sẽ được làm thêm các xét nghiệm chẩn đoán để xác định có mang gen bệnh hay không, kiểu gen là gì và biểu hiện lâm sàng như thế nào để có phương pháp điều trị phù hợp, giảm nguy cơ và biến chứng của bệnh. Ngày nay, các phương thức sàng lọc đơn giản và hiệu quả chủ yếu dựa trên các chỉ số của xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi như thể tích trung bình hồng cầu (MCV) và huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCH). Sàng lọc và Chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia là giải pháp hiệu quả duy nhất nhằm phòng tránh sinh ra những trẻ bị bệnh thalassemia trầm trọng bao gồm bệnh phù thai hemoglobin Bart's và bệnh thalassemia thể nặng. Sự phát triển các kỹ thuật di truyền phân tử xác định các loại đột biến gen thalassemia phổ biến trong quần thể đã giúp cho việc chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia chính xác hơn. Tuy nhiên để đưa ra những quyết định đúng, tư vấn cho gia đình người bệnh một cách hiệu quả thì bác sĩ sản khoa phải có hiểu biết nhất định về di truyền của bệnh thalassemia, dịch tễ học của bệnh, kiểu gen và kiểu hình liên quan [61].

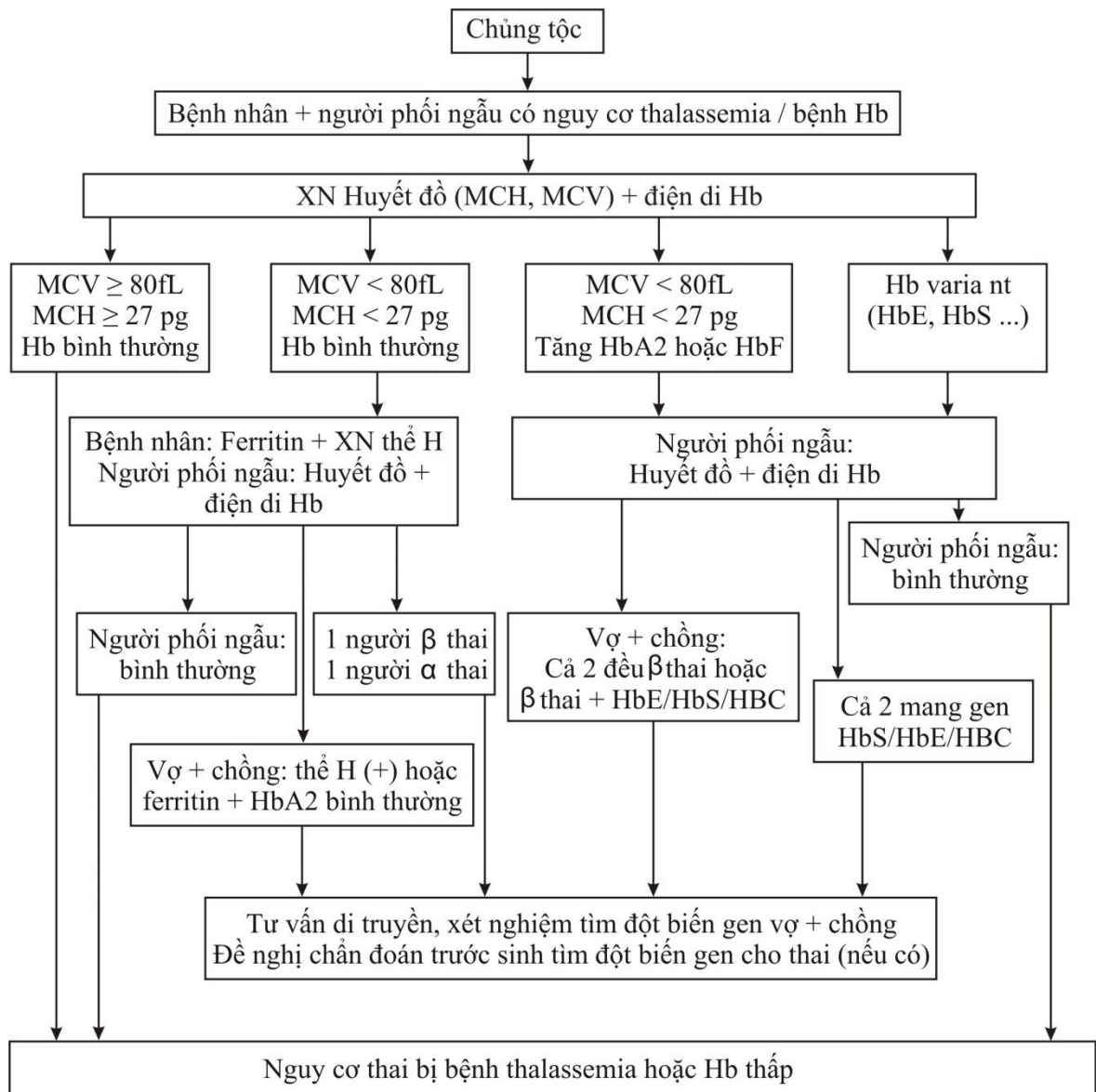
Phân tích xu hướng mới về dịch tễ học bệnh thalassaemia đã chỉ ra rằng tỷ lệ người mang gen bệnh cao ở những khu vực như Địa Trung Hải, Trung Đông, tiểu lục địa Ấn Độ, Đông Nam Á và Nam Trung Quốc, nhưng trong vài thập kỷ gần đây thì sự di cư đã làm cho bệnh thalassaemia xuất hiện nhiều hơn ở các nước mà bệnh này không phổ biến như Bắc Mỹ, Trung Âu và Bắc Âu. Những nước này có thể không triển khai hệ thống chẩn đoán trước sinh bệnh thalassaemia. Các phương pháp điều trị mới ngày càng tiến bộ đã giúp cứu sống những người bị thalassaemia thể nặng nhưng những biến chứng muộn đến với

họ là điều không tránh khỏi. Như vậy vai trò của chẩn đoán trước sinh bệnh thalassaemia càng có ý nghĩa hơn khi triển khai được thành hệ thống thường quy giúp cho người bệnh được chẩn đoán sớm cho thai và tư vấn di truyền để người bệnh quyết định có sinh ra những trẻ bị thalassaemia thể nặng hay không, nếu đẻ sinh ra thì biết để đưa trẻ đi điều trị sớm, giảm hậu quả của những biến chứng bệnh lên sức khỏe của trẻ sau này. Tuy nhiên, thách thức mới được đặt ra với chẩn đoán trước sinh bệnh thalassaemia là những kiểu gen ở những nhóm người thiểu số khác nhau sẽ tạo ra những kiểu hình khác nhau mà thầy thuốc chưa đủ hiểu biết hết để tư vấn di truyền cho người bệnh [58].

Canada là một nước ở Bắc Mỹ, có đặc điểm dân số xã hội đa văn hóa, thành phần dân di cư từ nhiều nơi trên thế giới, trong đó có các vùng có tần suất mắc bệnh và mang gen bệnh thalassemia cao, đồng thời nguồn lực y tế quốc gia của họ rất mạnh. Họ triển khai sàng lọc và chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia ở các chủng tộc có nguy cơ cao mắc bệnh.

Tất cả các thai phụ thuộc chủng tộc nguy cơ cao bị bệnh/ mang gen bệnh thalassemia sẽ được sàng lọc bằng xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi (trước đây gọi là xét nghiệm huyết đồ) và điện di huyết sắc tố. Tiêu chí sàng lọc dương tính trên xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi là $MCV < 80\text{fL}$ hoặc $MCH < 27\text{pg}$. Điện di Hb định lượng HbA1, HbA2, HbF và tìm một số biến thể như HbE,... Nếu thai phụ có kết quả xét nghiệm bất thường thì sàng lọc cho chồng. Nếu chồng bình thường thì hai vợ chồng có nguy cơ thấp sinh con bị bệnh thalassemia. Nếu hai vợ chồng cùng có kết quả xét nghiệm bất thường thì tư vấn di truyền, xét nghiệm tìm đột biến gen cho hai vợ chồng. Từ kết quả của hai vợ chồng sẽ phân tích nguy cơ mang gen của thai để làm chẩn đoán trước sinh tìm đột biến gen cho thai.

Sơ đồ sàng lọc và chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia của Canada như sau:



Sơ đồ 4.2: Quy trình sàng lọc và chẩn đoán thalassemia tại Canada.

“Nguồn: National Guideline, 2008” [93]

Quy trình này của Canada cũng tương tự quy trình được áp dụng trong nghiên cứu này. Sự khác biệt chính là quy trình của Canada bắt đầu từ chủng tộc người nguy cơ cao mang gen bệnh, còn tại Việt Nam thì chúng ta cần áp dụng sàng lọc cho tất cả mọi người, đặc biệt là với một số dân tộc vùng cao, có kết hôn cận huyết. Nhưng Việt Nam còn hạn chế về nguồn lực y tế cũng

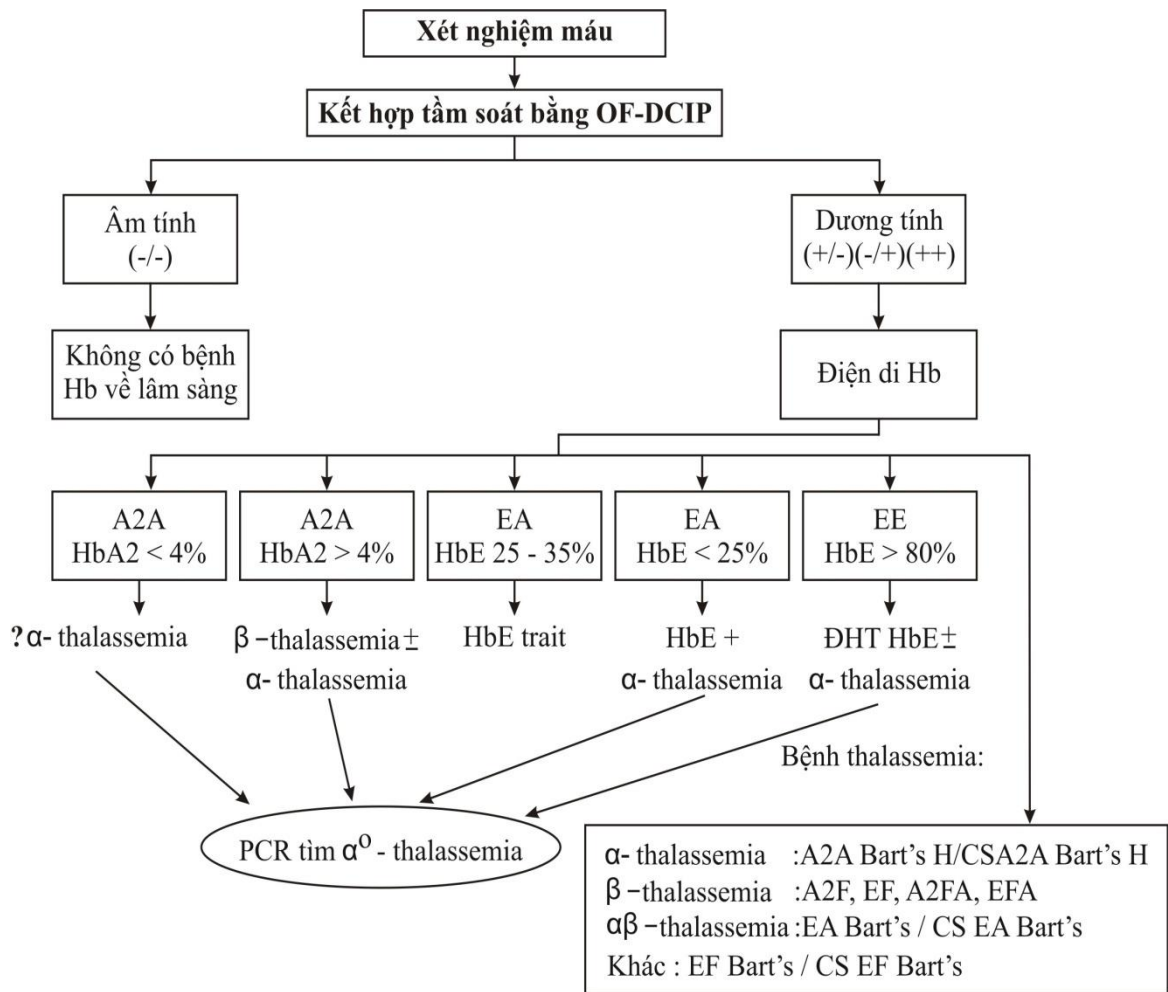
như kinh tế xã hội nên càng người vùng cao, vùng sâu càng khó tiếp cận với các dịch vụ sàng lọc và chẩn đoán trước sinh.

Mục tiêu của chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia là nhằm đạt được kết quả chính xác và nhanh nhất cho thai phụ mang thai ở tuần thai sớm nhất có thể. Quy trình chẩn đoán trước sinh bao gồm các bước: 1) Sàng lọc sớm để phát hiện các cặp vợ chồng có nguy cơ sinh con mắc bệnh thalassemia, 2) xác định đột biến gây bệnh của các cặp vợ chồng này, 3) Lấy được các chất liệu di truyền từ thai nhi một cách an toàn và nhanh nhất để chẩn đoán, 4) Xác định kiểu gen của thai bằng phân tích DNA thai dựa trên kiểu đột biến của bố và mẹ [47].

Các quốc gia có tỷ lệ mắc cao như Trung Quốc [4], Thái Lan [94], Đài Loan [95], Malaysia [96] đã triển khai sàng lọc bệnh thalassemia một cách hiệu quả nhờ sử dụng chỉ số MCV, MCH và điện di hemoglobin bằng kỹ thuật HPLC theo quy trình của Joutovsky và cộng sự mô tả [97].

Thái Lan là một quốc gia trong vùng Đông Nam Á, nằm trong vùng dịch tễ mắc bệnh thalassemia cao, tương tự như Việt Nam. Mục tiêu của họ là hạn chế sinh ra những trẻ bị bệnh phù thai Hb Bart's- là thể bệnh nặng của bệnh α -thalassemia, dẫn đến kết cục là phù thai, thai chết trong tử cung hoặc chết sau sinh; bệnh β -thalassemia đồng hợp tử và bệnh phối hợp β -thalassemia/HbE là những thể bệnh lâm sàng nặng khiến người bệnh phải điều trị truyền máu và thải sắt suốt đời, chịu nhiều các biến chứng của bệnh, chất lượng cuộc sống thấp và chi phí điều trị tốn kém.

Năm 2004, Goonnapa Fucharoen, Supan Fucharoen và cộng sự đã nghiên cứu quy trình sàng lọc và chẩn đoán trước sinh tại Thái Lan theo sơ đồ sau:



Sơ đồ 4.3: Quy trình sàng lọc và chẩn đoán thalassemia tại Thái Lan

“Nguồn Fucharoen, 2004” [98]

Năm 2018, A. Chaibunruang, Goonnapa Fucharoen, Supan Fucharoen và cộng sự đã nghiên cứu tỷ lệ mắc bệnh thalassemia ở trẻ sơ sinh: một nghiên cứu tái lại sau 20 năm thực hiện chương trình kiểm soát và dự phòng bệnh thalassemia ở Đông Bắc Thái Lan. Mục tiêu chính của chương trình này là nhằm dự phòng để không sinh ra những trẻ bị thalassemia thể nặng với 3 loại hình là Hb Bart's, đồng hợp tử β-thalassemia và bệnh phối hợp β-thalassemia/HbE. Nghiên cứu được tiến hành trên mẫu máu cuống rốn của 350 trẻ sơ sinh, các mẫu máu này được đưa đi làm xét nghiệm điện di huyết sắc tố và phân tích đột biến gen. Kết quả là có 52,6% mẫu máu có mang đột

biến gen thalassemia với nhiều kiểu gen khác nhau. Kiểu gen gặp nhiều nhất là HbE với tỷ lệ 39,1%. Không có trẻ nào được phát hiện mắc bệnh thalassemia thể nặng [99].

Việt Nam là nước giống Thái Lan nằm trong vùng Đông Nam Á, có tỷ lệ cao mắc bệnh thalassemia. Tại các tuyến trung ương, phương tiện để thực hiện các xét nghiệm sàng lọc và chẩn đoán trước sinh sẵn có. Với việc triển khai quy trình sàng lọc và chẩn đoán trước sinh như trong nghiên cứu này cũng có thể đạt mục đích dự phòng để không sinh ra những trẻ bị thalassemia thể nặng.

Hiệp hội thalassemia thế giới khuyến cáo sử dụng ngưỡng $MCV < 80\text{fL}$, $MCH < 27\text{pg}$ trong sàng lọc người mang gen bệnh thalassemia [100]

Tại Việt Nam, Bộ Y tế đã ban hành hướng dẫn quy trình xét nghiệm sàng lọc thalassemia dựa vào chỉ số thể tích trung bình hồng cầu $MCV < 80\text{fL}$ [12]; Ngô Diễm Ngọc đã ứng dụng sàng lọc: nếu cặp vợ chồng cùng có $MCV < 80\text{fL}$, $MCH < 27\text{pg}$, $HbA_2 > 3,5\%$, thì cặp vợ chồng được coi là có nguy cơ mang gen bệnh với bệnh β thalassemia, hoặc α -thalassemia kết hợp β thalassemia; nếu $MCV < 80\text{fL}$, $MCH < 27\text{pg}$, $HbA_2 < 3,5\%$, thì cặp vợ chồng được coi là có nguy cơ mang gen bệnh α thalassemia [74]; nghiên cứu về tầm soát và chẩn đoán trước sinh bệnh α và β thalassemia của N.K.H.Hoan đã kết luận, khi phối hợp cả 2 chỉ số $MCV < 80\text{fL}$ và $MCH < 27\text{pg}$, tỷ lệ phát hiện đột biến chung cho bệnh thalassemia là 88,1% và làm giảm tỷ lệ dương tính giả từ 65% xuống còn 30,8% [101].

Chìa khóa để kiểm soát bệnh thalassemia chính là nhận diện ra được những người có nguy cơ cao mang gen bệnh để họ được cung cấp những tư vấn di truyền, được tiếp cận với các xét nghiệm chẩn đoán di truyền bệnh thalassemia. Sàng lọc thường quy bằng xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi và điện di huyết sắc tố sẽ cho phép phát hiện hầu hết những người

mang gen bệnh β -thalassaemia và HbE, và α -thalassaemia thể trung bình và nặng (bệnh HbH và Hb Bart's). Việc phát hiện ra những người mang phối hợp đột biến cả gen α -thalassaemia và β -thalassaemia và HbE còn khó khăn nếu chỉ nhờ các xét nghiệm thường quy này. Chẩn đoán xác định kiểu gen bằng các xét nghiệm di truyền học phân tử thì tốn kém và đòi hỏi nguồn lực về trang thiết bị cũng như kiến thức di truyền. Ở nhiều quốc gia, sàng lọc được thực hiện khi mang thai. Sàng lọc phát hiện được những cặp vợ chồng có nguy cơ cao sinh con mang gen bệnh hoặc nguy cơ cao sinh con bị thalassemia thể nặng cần được chẩn đoán trước sinh bằng các xét nghiệm di truyền học phân tử. [102]

Tại Việt Nam, nếu triển khai được hệ thống sàng lọc và chẩn đoán trước sinh bệnh thalassaemia một cách thường quy ở phụ nữ có thai sẽ giúp nhận diện ra được những gia đình có nguy cơ cao sinh con mang gen bệnh thalassemia, và quan trọng hơn, chẩn đoán trước sinh sẽ giúp chẩn đoán ra được những thai bị bệnh α -thalassemia thể nặng (bệnh phù thai Hb Bart's) để ngừng thai sớm; chẩn đoán ra được những thai bị β -thalassaemia thể nặng để tư vấn cho gia đình hoặc ngừng thai sớm hoặc đưa trẻ đi điều trị sớm ngay từ năm đầu đời.

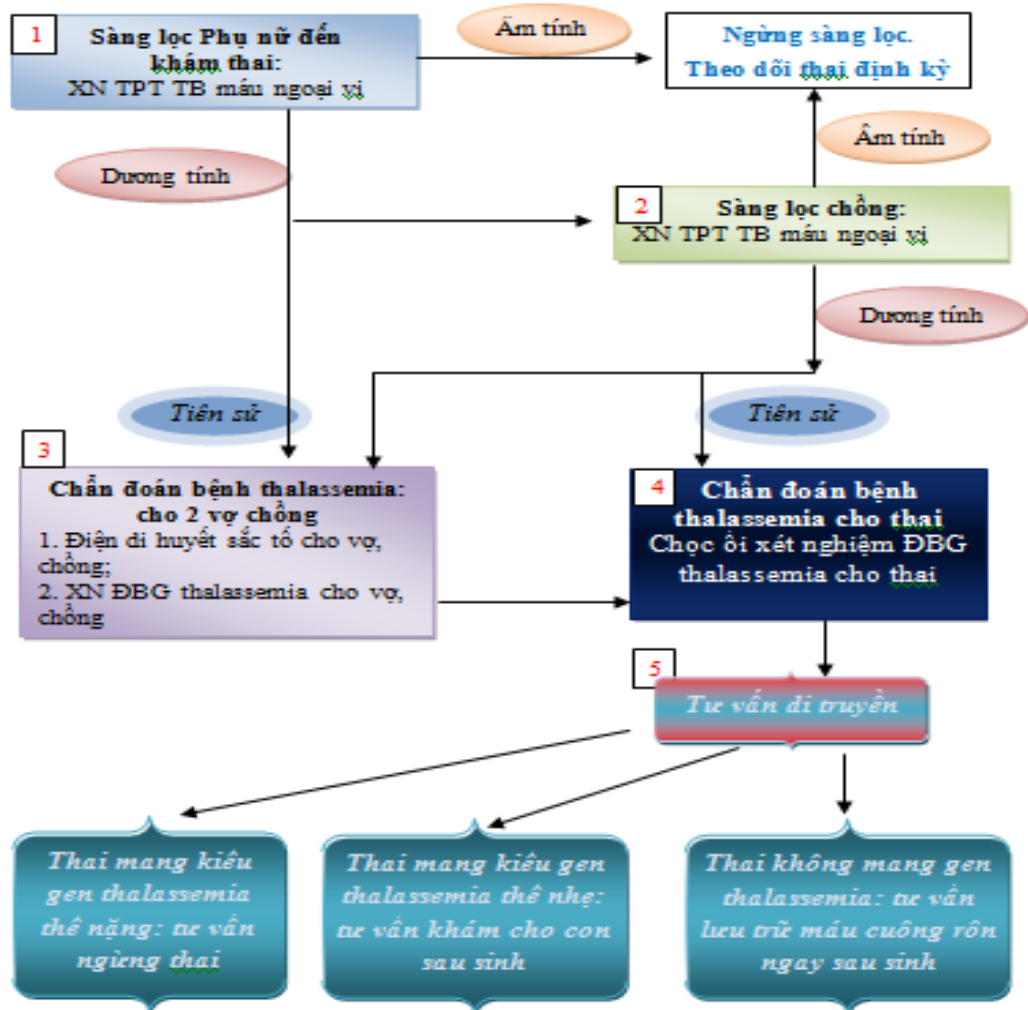
Một khó khăn nữa để đưa ra quyết định giữ hay bỏ thai là do biểu hiện đa dạng về kiểu hình của bệnh thalassemia. Có những trường hợp người bị bệnh HbH nhưng biểu hiện lâm sàng không phụ thuộc vào truyền máu hoặc kiểu gen là β -thalassemia đồng hợp tử nhưng kiểu hình biểu hiện thể trung gian không phụ thuộc truyền máu. Trong khi đó có những gia đình có nhiều hơn một người cả đời phụ thuộc vào truyền máu và thải sắt, chất lượng cuộc sống thấp, nguy cơ về sức khỏe nhiều, chi phí dành cho y tế quá lớn.

Những gia đình có tiền sử bị bệnh thalassemia, đã có con bị bệnh thalassemia thể nặng, xét nghiệm di truyền có khả năng sinh ra những trẻ bị

bệnh thalassemia thể nặng thì có thể tư vấn làm thụ tinh trong ống nghiệm và xét nghiệm di truyền trước chuyển phôi để chọn những phôi không bị bệnh đặt vào buồng tử cung người mẹ. Tuy nhiên chi phí cho kỹ thuật này còn rất cao, tỷ lệ có thai cũng như tỷ lệ sinh con khỏe mạnh còn phụ thuộc vào nhiều yếu tố nên cần tư vấn kỹ cho gia đình để quyết định.

4.3.2. Đề xuất quy trình sàng lọc và chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia

Qua nghiên cứu này và tham khảo những quy trình sàng lọc và chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia tại một số quốc gia phòng chống thalassemia thành công, chúng tôi đề xuất một quy trình sàng lọc và chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia như sau:



Sơ đồ 4.4: Quy trình sàng lọc và chẩn đoán trước sinh thalassemia.

Bước 1: Sàng lọc những phụ nữ đến khám thai bằng xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi, ngay từ lần khám thai đầu tiên.

➤ Sàng lọc **âm tính**: nhận định kết quả là âm tính khi thể tích trung bình hồng cầu (MCV) và huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCH) trong giới hạn bình thường.

➤ Sàng lọc **dương tính**: nhận định kết quả là dương tính khi thể tích trung bình hồng cầu giảm ($MCV < 80\text{fl}$) và/ hoặc huyết sắc tố trung bình hồng cầu giảm ($MCH < 28\text{pg}$).

➤ Thai phụ có kết quả sàng lọc âm tính thì ngừng sàng lọc, tiếp tục theo dõi thai định kỳ.

➤ Thai phụ có kết quả sàng lọc dương tính thì chuyển bước 2.

➤ Thai phụ có kết quả sàng lọc dương tính kèm theo có tiền sử bản thân và gia đình liên quan đến bệnh thalassemia như bản thân, chồng, con có người mang đột biến gen thalassemia hoặc tiền sử phù thai thì chuyển bước 3.

Bước 2: sàng lọc cho chồng bằng xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi khi kết quả sàng lọc của thai phụ là dương tính.

➤ Nếu kết quả sàng lọc cho chồng là âm tính thì ngừng sàng lọc, tiếp tục theo dõi thai định kỳ.

➤ Nếu kết quả sàng lọc cho chồng là dương tính thì chuyển bước 3.

➤ Nếu vợ, chồng có kết quả sàng lọc dương tính kèm theo có tiền sử bản thân và gia đình liên quan đến bệnh thalassemia như bản thân, chồng, con có người mang đột biến gen thalassemia hoặc tiền sử phù thai thì có thể chuyển bước 4 mà không qua bước 3. Thực tiễn, có những cặp vợ chồng tiền sử phù thai, có con đã được chẩn đoán mang gen bệnh thalassemia, hai vợ chồng không có triệu chứng lâm sàng, việc chỉ định làm xét nghiệm chẩn đoán bệnh

thalassemia cho thai mà không qua bước chẩn đoán bệnh cho hai vợ chồng là một nhu cầu thiết thực và tránh lãng phí, giúp chẩn đoán chính xác kết quả đột biến gen của thai để có giải pháp tư vấn di truyền.

Bước 3: chẩn đoán bệnh thalassemia cho thai phụ và chồng khi kết quả sàng lọc của hai vợ chồng là dương tính.

➤ Tư vấn làm xét nghiệm điện di huyết sắc tố cho hai vợ chồng để định hướng làm xét nghiệm đột biến gen. Nếu kết quả điện di có HbA1 giảm, HbA2 tăng, có HbE thì định hướng tìm đột biến gen β - thalassemia, tuy nhiên đôi khi vẫn có thể có phối hợp cả đột biến gen α - thalassemia. Nếu kết quả điện di trong giới hạn bình thường hoặc có xuất hiện HbH, HbCs,... thì định hướng tìm đột biến gen α – thalassemia.

➤ Xác định chẩn đoán bằng xét nghiệm tìm đột biến gen thalassemia cho hai vợ chồng.

Bước 4: Chẩn đoán trước sinh cho thai.

Đây là mục tiêu cuối cùng cần đạt được để có kết quả chẩn đoán là thai có mang gen bệnh hay không và kiểu gen có gây ra biểu hiện kiểu hình là bệnh thalassemia thể nặng hay không. Chọc ối lấy bệnh phẩm làm xét nghiệm đột biến gen thalassemia cho thai là biện pháp thông dụng nhất.

Bước 5: Tư vấn di truyền.

Tùy theo kết quả đột biến gen của thai để đưa ra các lời khuyên di truyền. Nếu thai mang kiểu gen sẽ biểu hiện kiểu hình là bệnh thalassemia thể nặng thì tư vấn ngừng thai sớm. Nếu thai mang kiểu gen sẽ biểu hiện kiểu hình là bệnh thalassemia thể nhẹ thì tư vấn giữ thai, khám và điều trị cho con sau sinh ở chuyên ngành Huyết học, chẩn đoán trước sinh sau này khi có thai. Nếu kết quả thai không mang đột biến gen bệnh thalassemia thì tư vấn lưu trữ

máu cuống rốn ngay sau sinh để có thể sử dụng điều trị ghép tế bào gốc cho những người trong gia đình mắc bệnh thể nặng.

Quy trình này phù hợp với các bác sĩ sản khoa- là những người tiếp xúc với thai phụ trong suốt quá trình thai nghén.

Để có kết quả chẩn đoán trước sinh sớm thì cần bắt đầu sàng lọc sớm – tốt nhất từ 3 tháng đầu của thai kỳ. Các bác sĩ cần thăm khám, hỏi kỹ tiền sử gia đình về bệnh thalassemia (đặc biệt tiền sử bệnh thalassemia của hai vợ chồng và con đã có), tiền sử sản khoa (chú ý tiền sử phù thai) để đưa ra chỉ định xét nghiệm phù hợp với từng thai phụ.

Chẩn đoán xác định mắc bệnh hay mang gen bệnh thalassemia bằng các xét nghiệm chuyên sâu như đột biến gen thì cần có ý kiến tư vấn của các chuyên gia huyết học. Việc tăng cường trao đổi thông tin giữa bác sĩ sản khoa, huyết học và di truyền sẽ đưa ra những giải pháp phù hợp nhất cho từng người bệnh ở từng thời điểm được chẩn đoán.

Về chỉ định chọc ối lấy bệnh phẩm làm xét nghiệm đột biến gen thalassemia: nghiên cứu của Nguyễn Khắc Hân Hoan tầm soát và chẩn đoán trước sinh tìm đột biến gen thalassemia cho 909 cặp vợ chồng có nguy cơ cao (cả hai vợ chồng đã được tầm soát dương tính với bệnh thalassemia bằng chỉ số $MCV < 80fL$ hoặc $MCH < 27pg$) thì có 414 trường hợp thai phụ từ chối chọc ối (chiếm 45,5%). Theo tác giả, nguyên nhân từ chối chọc ối có thể là do thai phụ lo lắng về ảnh hưởng của thủ thuật chọc ối lên thai hoặc do kết quả chẩn đoán gen của thai phụ và chồng cho thấy thai không có nguy cơ bị di truyền kiểu gen đột biến nặng [19]. Thực tiễn, nhiều cặp vợ chồng thấy mình không có biểu hiện gì về lâm sàng, cận lâm sàng cũng như tiền sử gia đình không có người mắc bệnh thalassemia nên họ không chọn giải pháp xét nghiệm đột biến gen cho họ, nhưng khi được nghe tư vấn về nguy cơ cho thai thì họ mong muốn chẩn đoán

bệnh thalassemia cho thai. Ngoài ra, có nhiều trường hợp siêu âm chẩn đoán phù thai, thai phụ và chồng xin ngừng thai nghén mà không làm tiếp các xét nghiệm chẩn đoán bệnh thalassemia cho thai. Chúng tôi tư vấn cho cặp vợ chồng làm xét nghiệm đột biến gen, nếu cặp vợ chồng mang dị hợp tử đột biến SEA thì tư vấn cho ngừng thai nghén mà không khuyên chọc ối vì kéo dài thời gian chờ kết quả xét nghiệm, trong khi đó phù thai không điều trị được, nếu để kéo dài tình trạng phù thai có thể xuất hiện tình trạng tiền sản giật ở mẹ. Những trường hợp phù thai thì tư vấn cho cặp vợ chồng chọc ối chẩn đoán bệnh thalassemia sớm cho thai ở lần có thai sau và tư vấn cho họ nếu đã có con thì đưa con đi khám chuyên khoa huyết học.

Những thai phụ và chồng có biểu hiện hồng cầu nhỏ hoặc nhược sắc nhưng không có các yếu tố khác gợi ý có nguy cơ mắc bệnh hoặc mang gen bệnh thalassemia (về tiền sử bản thân, tiền sử gia đình, bệnh sử, triệu chứng lâm sàng, các xét nghiệm khác) thì nhiều khi họ không muốn tiếp tục làm các xét nghiệm chẩn đoán bệnh thalassemia cho hai vợ chồng và thai. Tư vấn họ tiếp tục theo dõi và quản lý thai nghén định kỳ, sau khi đẻ đưa trẻ đi khám tại chuyên khoa Huyết học ngay từ năm đầu đời.

Năm 2008, Tổ chức Y tế Thế giới đã công bố về dịch tễ học toàn cầu của bệnh thalassemia đã chỉ ra rằng bệnh rối loạn huyết sắc tố là vấn đề sức khỏe tồn tại ở 71% trong số 229 quốc gia và vùng lãnh thổ trên toàn thế giới. Toàn cầu có khoảng 7% phụ nữ có thai mang gen β hoặc α^0 thalassemia hoặc các huyết sắc tố bất thường khác, khoảng 1% các cặp đôi có nguy cơ cao sinh con mắc bệnh thalassemia. Nghiên cứu đã khuyến cáo việc sàng lọc bệnh rối loạn huyết sắc tố nên là một phần của các dịch vụ y tế cơ bản ở các quốc gia [103].

KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu sàng lọc bệnh thalassemia ở phụ nữ có thai đến khám và điều trị tại bệnh viện Phụ Sản Trung Ương, chúng tôi rút ra một số kết luận như sau:

1. Một số chỉ số huyết học của các thai phụ tham gia sàng lọc bệnh thalassemia tại Bệnh viện Phụ Sản Trung Ương.

1.1. Trong số 9516 thai phụ được sàng lọc bệnh thalassemia bằng xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi, tỷ lệ dương tính phát hiện được qua sàng lọc là 13% (với số lượng cụ thể là 1237/9516).

1.2. Tỷ lệ hồng cầu nhỏ (với chỉ số $MCV < 80fL$) của các thai phụ là 6,2%. Kết quả xét nghiệm thể tích trung bình hồng cầu (MCV): 95% các thai phụ mang đột biến gen thalassemia có chỉ số MCV nằm trong khoảng $66,9 \pm 4,8 fL$; 95% các thai phụ sàng lọc dương tính bệnh thalassemia có chỉ số MCV nằm trong khoảng $78,0 \pm 7,3 fL$.

1.3. Tỷ lệ hồng cầu nhược sắc (với chỉ số $MCH < 28pg$) của các thai phụ là 12,8%. Kết quả xét nghiệm huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCH): 95% các thai phụ mang đột biến gen thalassemia có chỉ số MCV nằm trong khoảng $21,6 \pm 1,8pg$; 95% các thai phụ sàng lọc dương tính bệnh thalassemia có chỉ số MCV nằm trong khoảng $25,4 \pm 2,7pg$.

Phụ nữ có thai có hồng cầu nhỏ với chỉ số thể tích trung bình hồng cầu MCV nhỏ hơn $80fL$ và/hoặc hồng cầu nhược sắc với chỉ số huyết sắc tố trung bình hồng cầu MCH nhỏ hơn $28pg$ cần được tư vấn làm xét nghiệm chẩn đoán bệnh thalassemia cho hai vợ chồng và chẩn đoán trước sinh cho thai nếu hai vợ chồng mang gen bệnh có nguy cơ di truyền sinh con mắc bệnh thalassemia thể nặng.

2. Kết quả chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia.

Kết quả chọc ối của 123 trường hợp thai phụ có mang đột biến gen bệnh thalassemia như sau:

2.1. Tỷ lệ thai mang gen bệnh thalassemia.

61% thai mang đột biến gen α - thalassemia;

7,3% thai mang đột biến gen bệnh β - thalassemia;

1,6% thai mang đột biến gen bệnh huyết sắc tố E;

8,9% thai mang đột biến gen phối hợp α , β - thalassemia và/hoặc HbE

21,1% thai không mang đột biến gen bệnh thalassemia.

2.2. Tỷ lệ mắc bệnh của thai.

29,3% thai mắc bệnh α - thalassemia thể nặng;

7,3% thai mắc bệnh β - thalassemia thể nặng;

42,3% thai mang gen bệnh thalassemia thể nhẹ;

21,1% thai không mắc bệnh.

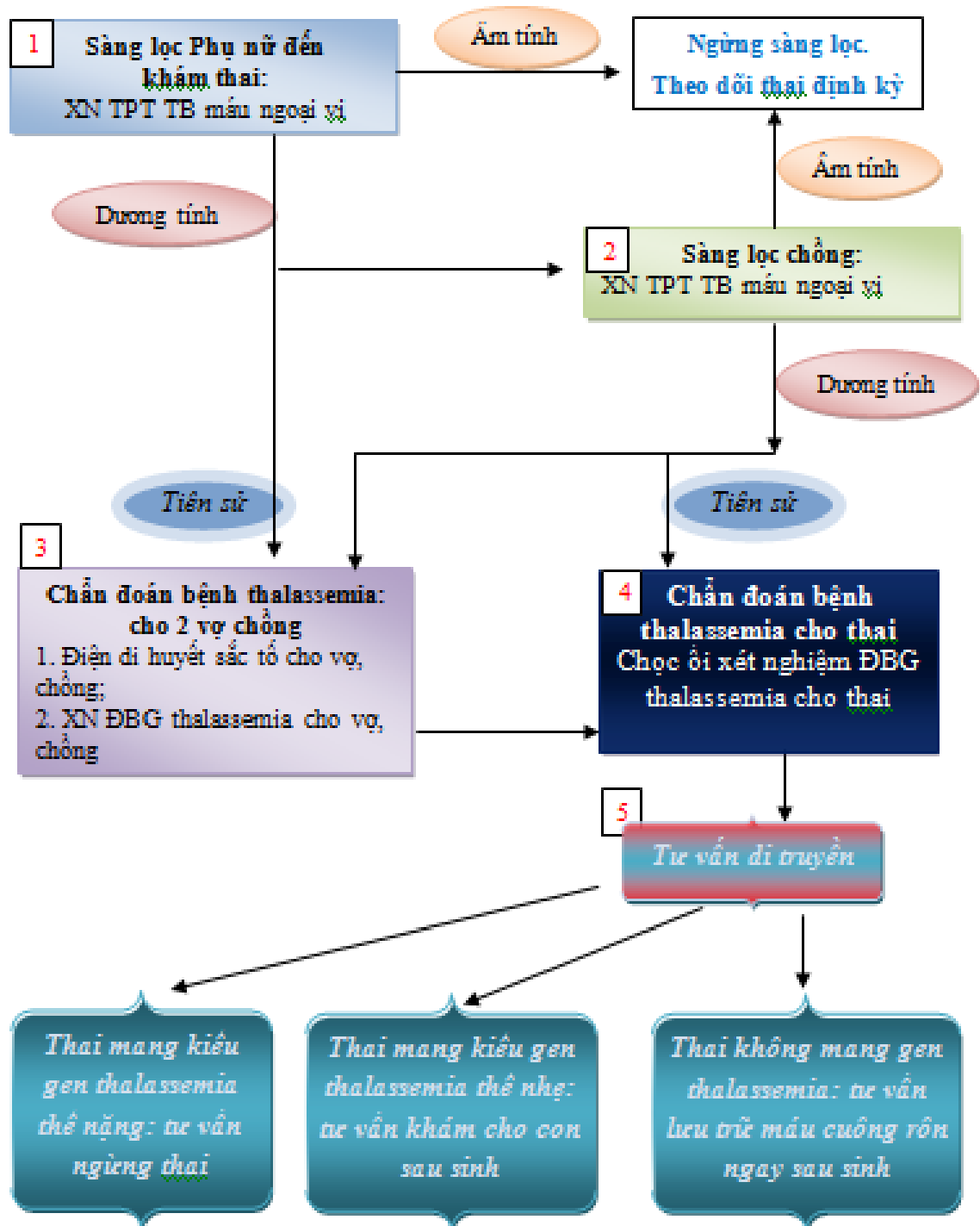
2.3. Siêu âm: phù thai chẩn đoán trên siêu âm có 14 trường hợp thì cả 14 thai mang đồng hợp tử đột biến gen SEA, cần ngừng thai nghén sớm.

2.4. Tiền sử sản khoa: tiền sử phù thai có 64 trường hợp thì 25 trường hợp (chiếm 39,1%) lặp lại phù thai ở lần có thai này.

Chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia đã đưa ra những kết quả chính xác về kiểu gen của thai, giúp các bác sĩ tư vấn về bệnh tật và giải pháp sản khoa cho thai phụ và gia đình. Những trường hợp thai phụ có tiền sử phù thai hoặc siêu âm chẩn đoán phù thai cần được chẩn đoán trước sinh bệnh α -thalassemia.

KIẾN NGHỊ

Xây dựng quy trình sàng lọc và chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia ở phụ nữ có thai trình Cấp có thẩm quyền phê duyệt và ban hành để áp dụng sàng lọc cho tất cả phụ nữ có thai đến khám ở các tuyến theo sơ đồ 4.4.



DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. “Khảo sát một số đặc điểm liên quan đến bệnh thalassemia ở phụ nữ có thai đến khám tại Trung tâm Chẩn đoán trước sinh- bệnh viện Phụ Sản Trung Ương năm 2015”. *Đặng Thị Hồng Thiện, Ngô Minh Thắng*. Tạp chí Phụ Sản tập 14 (01), 05-2016, trang 14-18.
2. “Nghiên cứu một số chỉ số hồng cầu ở thai phụ thalassemia tại bệnh viện Phụ Sản Trung Ương”. *Đặng Thị Hồng Thiện, Nguyễn Thị Phụng, Nguyễn Thành Luân, Lê Hoài Chương, Nguyễn Quang Tùng*. Tạp chí Phụ Sản tập 15(02), 05-2017, trang 80-84.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Liên đoàn Thalassemia quốc tế. (2008). *Hướng dẫn xử trí lâm sàng bệnh thalassemia, Ấn bản lần 2*, Liên đoàn Thalassemia quốc tế.
2. Bộ Y.t. (2015). Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị một số bệnh lý huyết học. *Nhà Xuất Bản Y học*, 233-237.
3. Piel F.B., Weatherall D.J. (2014). The α -Thalassemias. *New England Journal of Medicine*, 371 (20), 1908-1916.
4. He S., Zhang Q., Li D. et al. (2014). Prevention and control of Hb Bart's disease in Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 178 (7), 138-141.
5. Chan V., Chan T.K., Tang M. et al. (1995). Prenatal diagnosis and screening of common genetic diseases in Hong Kong. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 26 (1), 1-2.
6. Boonsa S., Sanchaisuriya K., Fucharoen G. et al. (2004). The diverse molecular basis and hematological features of Hb H and AEBart's diseases in Northeast Thailand. *Acta Haematol*, 111 (3), 149-154.
7. Fucharoen S., Winichagoon P. (2011). Haemoglobinopathies in southeast Asia. *The Indian journal of medical research*, 134 (6), 498-506.
8. Jatavan P., Chattipakorn N., Tongsong T. (2018). Fetal hemoglobin Bart's hydrops fetalis: pathophysiology, prenatal diagnosis and possibility of intrauterine treatment. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 31 (7), 946-957.
9. Old J., Harteveld C.L., Traeger-Synodinos J. et al. (2013). Prevention of Thalassaemias and Other Haemoglobin Disorders. Thalassaemia International Federation., Nicosia, Cyprus,

10. Needs T., Lynch D.T. (2018). Beta Thalassemia. *StatPearls*, StatPearls Publishing LLC., Treasure Island FL,
11. Hassan T., Zakaria M., Fathy M. et al. (2018). Association between genotype and disease complications in Egyptian patients with beta thalassemia: A Cross-sectional study. *Sci Rep*, 8 (1), 17730.
12. Bộ. Y.t. (2014). Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh Hemophilia và bệnh Thalassemia. *Quyết định 921/QĐ-BYT ngày 18/3/2014*
13. Lý Thị Thanh Hà N.T.P.M., Ngô Diễm Ngọc và Cs (2013). Chẩn đoán di truyền trước sinh bệnh beta thalassemia tại bệnh viện Nhi Trung Ương. *Tạp chí nghiên cứu y học*, 81 (1), 8-13.
14. Theodoridou S., Prapas N., Balassopoulou A. et al. (2018). Efficacy of the National Thalassaemia and Sickle Cell Disease Prevention Programme in Northern Greece: 15-Year Experience, Practice and Policy Gaps for Natives and Migrants. *Hemoglobin*, 1-6.
15. Sargolzaie N., Montazer Zohour M., Ayubi E. et al. (2018). Relationship Between Social Determinants of Health and the Thalassemia Prenatal Diagnosis Test in Zahedan, South Eastern Iran. *Hemoglobin*, 1-5.
16. García-Roa M., Del Carmen Vicente-Ayuso M., Bobes A.M. et al. (2017). Red blood cell storage time and transfusion: current practice, concerns and future perspectives. *Blood transfusion = Trasfusione del sangue*, 15 (3), 222-231.
17. Nagatomo S., Nagai Y., Aki Y. et al. (2015). An Origin of Cooperative Oxygen Binding of Human Adult Hemoglobin: Different Roles of the α and β Subunits in the $\alpha_2\beta_2$ Tetramer. *PloS one*, 10 (8), e0135080-e0135080.
18. Higgs D.R. (2013). The molecular basis of alpha-thalassemia. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 3 (1), a011718.

19. Hoan N.K.H. (2013). Nghiên cứu tầm soát và chẩn đoán trước sinh bệnh alpha và beta thalassemia. *Luận án tiến sĩ y học*,
20. Cappellini M., Cohen A., Eleftheriou A et al. (2008). Guidelines for the Clinical Management of Thalassaemia 2nd. *Thalassaemia International Federation*,
21. Cappellini MD C.A., Porter J, et al. (2014). *Guidelines for the Management of Transfusion Dependent Thalassaemia*. Thalassaemia International Federation TIF Publication No.20,
22. Cornelis L.H., Douglas R.H. (2010). Alpha Thalassaemia. *Orphanet journal of rare diseases*, 1 (4), 5-13.
23. Farashi S., Harteveld C.L. (2018). Molecular basis of alpha-thalassemia. *Blood Cells Mol Dis*, 70, 43-53.
24. Nguyễn Viết Nhân, Nguyễn Khắc Hân Hoan, Triết. L.P.M. (2014). *Tài liệu hướng dẫn tư vấn sàng lọc bệnh thiếu máu tan máu bẩm sinh (thalassemia)*, Trường Đại học Y Dược Huế.
25. Ngô Diễm Ngọc và cs. (2013). Ứng dụng kỹ thuật sinh học phân tử trong phát hiện đột biến gen α -globin của bệnh α -thalassemia. *Tạp chí nghiên cứu y học*, 8 (1), 14-18.
26. Nguyễn Khắc Hân Hoan, Phạm Việt Thanh, Trương Đình Kiệt và cộng sự (2011). Chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia trên 290 trường hợp thai. *Tạp chí nghiên cứu y học*, 74 (3), 1-7.
27. Ulianov S.V., Galitsyna A.A., Flyamer I.M. et al. (2017). Activation of the alpha-globin gene expression correlates with dramatic upregulation of nearby non-globin genes and changes in local and large-scale chromatin spatial structure. *Epigenetics Chromatin*, 10 (1), 35.

28. King A.J., Higgs D.R. (2018). Potential new approaches to the management of the Hb Bart's hydrops fetalis syndrome: the most severe form of alpha-thalassemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2018 (1), 353-360.
29. Tumian N.R., Wong M., Wong C.L. (2015). alpha-thalassemia-associated hydrops fetalis: A rare cause of thyrotoxic cardiomyopathy. *J Obstet Gynaecol Res*, 41 (6), 967-970.
30. Cao A., Galanello R. (2010). Beta-thalassemia. *Genet Med*, 12 (2), 61-76.
31. Svasti S., Hieu T.M., Munkongdee T. et al. (2002). Molecular analysis of beta-thalassemia in South Vietnam. *Am J Hematol*, 71 (2), 85-88.
32. Stamatoyannopoulos G. (2005). Prospects for developing a molecular cure for thalassemia. *Hematology*, 1, 255-257.
33. Taher A., Isma'eel H., Cappellini M.D. (2006). Thalassemia intermedia: Revisited. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 37 (1), 12-20.
34. Ceci A., Baiardi P., Catapano M. et al. *Risk factors for death in patients with beta-thalassemia major: results of a case-control study*, Haematologica. 2006 Oct;91(10):1420-1. Epub 2006 Sep 7.,
35. Aessopos A., Kati M., Meletis J. (2007). Thalassemia intermedia today: should patients regularly receive transfusions? *Transfusion*, 47 (5), 792-800.
36. Borgna-Pignatti C., Rugolotto S., De Stefano P. et al. (2004). Survival and complications in patients with thalassemia major treated with transfusion and deferoxamine. *Haematologica*, 89 (10), 1187-1193.
37. Boncimino A., Bertaina A., Locatelli F. (2010). Cord blood transplantation in patients with hemoglobinopathies. *Transfus Apher Sci*, 42 (3), 277-281.

38. von Kalle C., Baum C., Williams D.A. (2004). Lenti in red: progress in gene therapy for human hemoglobinopathies. *J Clin Invest*, 114 (7), 889-891.
39. Roselli EA et al. (2006). Gene therapy for β -thalassemia: preclinical studies on human cells. *Molecular Therapy* 13 (1), 52-57.
40. Petrakos G., Andriopoulos P., Tsironi M. (2016). Pregnancy in women with thalassemia: challenges and solutions. *International Journal of Women's Health*, 8, 441-451.
41. De Sanctis V., Soliman A.T., Elsedfy H. et al. (2013). Growth and endocrine disorders in thalassemia: The international network on endocrine complications in thalassemia (I-CET) position statement and guidelines. *Indian J Endocrinol Metab*, 17 (1), 8-18.
42. Roussou P., Tsagarakis N.J., Kountouras D. et al. (2013). Beta-thalassemia major and female fertility: the role of iron and iron-induced oxidative stress. *Anemia*, 617204 (10), 16.
43. Origa R., Piga A., Quarta G. et al. (2010). Pregnancy and β -thalassemia: an Italian multicenter experience. *Haematologica*, 95 (3), 376.
44. Charoenboon C., Jatavan P., Traisrisilp K. et al. (2016). Pregnancy outcomes among women with beta-thalassemia trait. *Arch Gynecol Obstet*, 293 (4), 771-774.
45. Traisrisilp K., Jatavan P., Tongsong T. (2017). A retrospective comparison of pregnancy outcomes between women with alpha-thalassaemia 1 trait and normal controls. *J Obstet Gynaecol*, 37 (8), 1000-1003.
46. Ansari S., Azarkeivan A., Tabaroki A. (2006). Pregnancy in patients treated for beta thalassemia major in two centers (Ali Asghar Children's Hospital and Thalassemia Clinic): outcome for mothers and newborn infants. *Pediatr Hematol Oncol*, 23 (1), 33-37.

47. Hartevelde C.L., Kleanthous M., Traeger S.J. (2009). Prenatal diagnosis of hemoglobin disorders: present and future strategies. *Clin Biochem*, 42 (18), 1767-1779.
48. He J., Song W., Yang J. et al. (2017). Next-generation sequencing improves thalassemia carrier screening among premarital adults in a high prevalence population: the Dai nationality, China. *Genet Med*, 19 (9), 1022-1031.
49. Chaweephisal P., Phusua A., Fanhchaksai K. et al. (2019). Borderline hemoglobin A2 levels in northern Thai population: HBB genotypes and effects of coinherited alpha-thalassemia. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 74, 13-17.
50. Stembalska A., Slezak R., Pesz K. et al. (2007). Prenatal diagnosis--principles of diagnostic procedures and genetic counseling. *Folia Histochem Cytobiol*, 45 Suppl 1, S11-16.
51. Garite T.J., Combs C.A. (2014). Chapter 3 - Obstetric Issues, Labor, and Delivery A2 - Polin, Richard A. *Fetal and Neonatal Secrets (Third Edition)*, Mosby, Philadelphia, 33-48.
52. Shulman L.P., Elias S. (2013). Chapter 26 - Techniques for Prenatal Diagnosis. *Emery and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics (Sixth Edition)*, Academic Press, Oxford, 1-28.
53. Ville Y. (2009). Chapter 12 - Invasive procedures in obstetrics A2 - Wladimiroff, Juriy W. *Ultrasound in Obstetrics and Gynaecology*, Elsevier, Edinburgh, 229-245.
54. Shahbazian N., Barati M., Arian P. et al. (2012). Comparison of Complications of Chorionic Villus Sampling and Amniocentesis. *International Journal of Fertility & Sterility*, 5 (4), 241-244.

55. Deng J., Peng W.L., Li J. et al. (2006). Successful preimplantation genetic diagnosis for alpha- and beta-thalassemia in China. *Prenat Diagn*, 26 (11), 1021-1028.
56. Ngô Trường Giang, Trần Văn Khoa, Triệu Tiến Sang và cs. Kết quả bước đầu ứng dụng quy trình chẩn đoán di truyền trước chuyển phôi bệnh beta-thalassemia bằng kỹ thuật Minisequencing. *Y học Việt Nam*, tập 448, tr 94-100.
57. Traeger-Synodinos J. (2017). Pre-implantation genetic diagnosis. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 39, 74-88.
58. Li C.-K. (2017). New trend in the epidemiology of thalassaemia. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 39, 16-26.
59. Al-Madhani A., Pathare A., Al Zadjali S. et al. (2019). The Use of HPLC as a Tool for Neonatal Cord Blood Screening of haemoglobinopathy: A Validation Study. *Mediterr J Hematol Infect Dis*, 11 (1), e2019005.
60. Li D.Z., Tang H.S. (2019). Chromosomal microarray analysis in pregnancies at risk for a molecular disorder. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 1-91.
61. Shang X., Xu X. (2017). Update in the genetics of thalassemia: What clinicians need to know. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 39, 3-15.
62. Barrett A.N., Saminathan R., Choolani M. (2017). Thalassaemia screening and confirmation of carriers in parents. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 39, 27-40.
63. Li D.-Z., Yang Y.-D. (2017). Invasive prenatal diagnosis of fetal thalassemia. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 39, 41-52.

64. Nguyễn Khắc Hân Hoan và cs. (2011). Tầm soát và chẩn đoán trước sinh đột biến gen thalassemia. *Tạp chí nghiên cứu y học*, 73 (2), 1-7.
65. Bạch Khánh Hòa N.Q.C. (2006). Tìm hiểu một số đột biến gây β -thalassemia ở người miền Bắc Việt Nam. *Tạp chí nghiên cứu y học*, 40 (1), 15-17.
66. Dương Bá Trục T.T.H.H., Tạ Thị Thu Hòa và cs (2008). Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật sàng lọc beta-thalassemia ở cộng đồng. *Tạp chí nghiên cứu y học*, 57 (4), 229-232.
67. Madan N., Sharma S., Sood S.K. et al. (2010). Frequency of β -thalassemia trait and other hemoglobinopathies in northern and western India. *Indian Journal of Human Genetics*, 16 (1), 16-25.
68. Peng C.T., Liu S.C., Peng Y.C. et al. (2013). Distribution of thalassemias and associated hemoglobinopathies identified by prenatal diagnosis in Taiwan. *Blood Cells Mol Dis*, 51 (3), 138-141.
69. Gupta V., Sharma P., Jora R. et al. (2015). Screening for Thalassemia Carrier Status in Pregnancy and Pre-Natal Diagnosis. *Indian Pediatr*, 52 (9), 808-809.
70. Olatunya O.S., Albuquerque D.M., Adekile A. et al. (2018). Influence of alpha thalassemia on clinical and laboratory parameters among nigerian children with sickle cell anemia. *J Clin Lab Anal*, e22656.
71. Wang W., Yuan Y., Zheng H. et al. (2017). A Pilot Study of Noninvasive Prenatal Diagnosis of Alpha- and Beta-Thalassemia with Target Capture Sequencing of Cell-Free Fetal DNA in Maternal Blood. *Genetic testing and molecular biomarkers*, 21 (7), 433-439.
72. Tổng c.T.k. (2011). Điều tra Đánh giá các mục tiêu Trẻ em và Phụ nữ 2011. Giám sát thực trạng trẻ em và phụ nữ. *Báo cáo MICS Việt Nam 2011*,

73. Liao C., Xie X.M., Zhong H.Z. et al. (2009). Proposed screening criteria for beta-thalassemia trait during early pregnancy in southern China. *Hemoglobin*, 33 (6), 528-533.
74. Ngọc N.D. (2018). Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, kiểu gen của bệnh HbH và chẩn đoán trước sinh bệnh alpha-thalassemia. *Luận án tiến sĩ y học*,
75. Ánh N.T. (2017). Thực trạng mang gen beta thalassemia và kiến thức thái độ thực hành dự phòng bệnh ở phụ nữ dân tộc thiểu số, 15-49 tuổi, có chồng huyện Chợ Mới, tỉnh Bắc Cạn. *Luận văn Thạc sĩ Y học*, Đại học Y Dược Thái Nguyên, 52-62.
76. Mirzakhani M., Tarrahi M.J., Baghersad A. et al. (2019). Can Couples With $MCV \geq 80$, $MCH < 26$, $HbA2 < 3.2$, $HbF < 3$ be Classified as Low-risk beta-Thalassemia Group? *J Pediatr Hematol Oncol*,
77. Lao T.T. (2017). Obstetric care for women with thalassemia. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 39, 89-100.
78. Mettananda S., Suranjan M., Fernando R. et al. (2018). Anaemia among females in child-bearing age: Relative contributions, effects and interactions of alpha- and beta-thalassaemia. *PloS one*, 13 (11), e0206928.
79. Yi J.S. M.C.L., Baker K.S. (2009). Homozygous alpha-thalassemia treated with intrauterine transfusions and unrelated donor hematopoietic cell transplantation. *J Pediatr*, 154 (3), 766-768.
80. Karakas B., Qubbaj W., Al-Hassan S. et al. (2015). Noninvasive Digital Detection of Fetal DNA in Plasma of 4-Week-Pregnant Women following In Vitro Fertilization and Embryo Transfer. *PloS one*, 10 (5), e0126501.
81. Lee T.H., Hsu Y.C., Chang C.L. (2017). Detection of SEA-type alpha-thalassemia in embryo biopsies by digital PCR. *Taiwan J Obstet Gynecol*, 56 (4), 487-494.

82. Jomoui W., Fucharoen G., Sanchaisuriya K. et al. (2017). Genetic origin of $\alpha(0)$ -thalassemia (SEA deletion) in Southeast Asian populations and application to accurate prenatal diagnosis of Hb Bart's hydrops fetalis syndrome. *Journal of human genetics*, 62 (8), 747-754.
83. Kutlar F., Reese A.L., Hsia Y.E. et al. (1989). The types of hemoglobins and globin chains in hydrops fetalis. *Hemoglobin*, 13 (1), 671-683.
84. Chui D.H. (2005). Alpha-thalassemia: Hb H disease and Hb Barts hydrops fetalis. *Ann N Y Acad Sci*, 1054 (5), 25-32.
85. Vichinsky E.P. (2009). Alpha thalassemia major--new mutations, intrauterine management, and outcomes. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 35-41.
86. Lal A., Goldrich M.L., Haines D.A. et al. (2011). Heterogeneity of Hemoglobin H Disease in Childhood. *New England Journal of Medicine*, 364 (8), 710-718.
87. Sheeran C., Weekes K., Shaw J. et al. (2014). Complications of HbH disease in adulthood. *British Journal of Haematology*, 167 (1), 136-139.
88. Fucharoen S., Viprakasit V. (2009). Hb H disease: clinical course and disease modifiers. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 26-34.
89. Wang H.C., Hsieh L.L., Liu Y.C. et al. (2017). The epidemiologic transition of thalassemia and associated hemoglobinopathies in southern Taiwan. *Ann Hematol*, 96 (2), 183-188.
90. Lai K., Huang G., Su L. et al. (2017). The prevalence of thalassemia in mainland China: evidence from epidemiological surveys. *Scientific reports*, 7 (1), 920-920.

91. Li D., Liao C., Li J. et al. (2006). Detection of alpha- thalassemia in beta-thalassemia carriers and prevention of Hb Bart's hydrops fetalis through prenatal screening. *Haematologica*, 91 (5), 649-651.
92. Cao A., Rosatelli M.C., Monni G. et al. (2002). Screening for thalassemia: a model of success. *Obstet Gynecol Clin North Am*, 29 (2), 305-328, vi-vii.
93. Langlois S., Ford J.C., Chitayat D. et al. (2008). Carrier Screening for Thalassemia and Hemoglobinopathies in Canada. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*, 30 (10), 950-959.
94. Yamsri S., Sanchaisuriya K., Fucharoen G. et al. (2010). Prevention of severe thalassemia in northeast Thailand: 16 years of experience at a single university center. *Prenat Diagn*, 30 (6), 540-546.
95. Cheng P.J., Chu D.C., Lee C.H. et al. (2003). Prenatal diagnosis of alpha-thalassemia of Southeast Asian deletion with non-radioactive southern hybridization. *Chang Gung Med J*, 26 (1), 20-25.
96. George E., Mokhtar A.B., Azman Z.A. et al. (1996). Prenatal diagnosis of Hb Bart's hydrops fetalis in West Malaysia: the identification of the alpha thal 1 defect by PCR based strategies. *Singapore Med J*, 37 (5), 501-504.
97. Alla J., Joan H., Michael A.N. (2004). HPLC Retention Time as a Diagnostic Tool for Hemoglobin Variants and Hemoglobinopathies: A Study of 60000 Samples in a Clinical Diagnostic Laboratory. *Clinical Chemistry*, 50 (5), 1736-1747.
98. Goonnapa Fucharoen K.S., Nattaya Sae-ung, Samrit Dangwibul, Supan Fucharoen (2004). A simplified screening strategy for thalassemia and haemoglobin E in rural communities in south-east Asia. *Bull World Health Organ*, 82 (5), 364-370.
99. Chaibunruang A., Sornkayasit K., Chewasateanchai M. et al. (2018). Prevalence of Thalassemia among Newborns: A Re-visited after 20 Years of a

Prevention and Control Program in Northeast Thailand. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*, 10 (1), e2018054-e2018054.

100. John O., Joanne T.S., Renzo G. et al. (2013). Prevention of Thalassemia and other Hemoglobin Disorders. *Thalassemia International Federation Publications*,

101. Hoan N.K.H. (2013). Nghiên cứu tầm soát và chẩn đoán trước sinh bệnh alpha và beta Thalassemia. *Luận văn tiến sĩ*,

102. Law H.-Y. (2015). AB023. Problem in the prevention and control of thalassaemia in Asia. *Annals of Translational Medicine*,

103. Modell B., Darlison M. (2008). Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. *Bull World Health Organ*, 86 (6), 480-487.

Phụ lục 1:**MẪU BỆNH ÁN NGHIÊN CỨU**

1. Họ và tên: Mã người bệnh:

Năm sinh: Nghề nghiệp:

Dân tộc: Địa chỉ:

2. Tuổi thai khi xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi: tuần

3. Kết quả xét nghiệm:

	Vợ	Chồng
RBC (T/L)		
HGB (g/dL)		
MCV (fL)		
MCH (pg)		
WBC (G/l)		
PLT (G/l)		
Sắt huyết thanh		
Ferritin huyết thanh		
HbA1 (%):		
HbA2 (%):		
HbF (%):		
HbE (%):		
Hb Khác:		

4. Kết quả siêu âm thai tại thời điểm sàng lọc:

a. Bình thường

b. Phù thai

c. Bất thường thai khác:

5. Kết quả xét nghiệm di truyền:

	Vợ	Chồng	Con (nếu đã có)	Thai (XN ối)
alpha thalassemia				
beta thalassemia				
HbE				
Phối hợp				
Bình thường				
Không biết				

6. Tiền sử sản khoa **liên quan bệnh Thalassemie:**

1) Con bình thường (đã được xét nghiệm chẩn đoán bệnh thalassemia)	4) Phù thai
2) Con bị alpha thalassemia	5) Thai bất thường, thai lưu, sảy thai
3) Con bị beta thalassemia	3) Đẻ con bị dị tật, chết
4) Con bị alpha + beta thalassemia	6) Chưa có thai
5) Con bị HbE	7) con chưa được chẩn đoán bệnh thalassemia
8) khác	

DANH SÁCH BỆNH NHÂN NGHIÊN CỨU

STT	MÃ BN	HỌ VÀ TÊN	NĂM SINH	ĐỊA CHỈ	NGÀY CHỌC ỎI
1	1700045907	Đổng Thị Hải Y	1993	Quảng Ninh	13.3.2017
2	180003453	Lê Thị M	1990	Thanh Hóa	08.3.2018
3	26028061	Trần Thị H	1993	Hưng Yên	15.3.2018
4	1600210975	Nguyễn Thị N	1994	Hà Nội	02.4.2018
5	1800107373	Nguyễn Thị T	1990	Thanh Hóa	31.5.2018
6	1800405918	Hoàng Thị Thúy H	1986	Bắc Cạn	22.3.2018
7	14067045	Bùi Thị H	1991	Nam Định	22.02.2017
8	158215051	Trần Thị T	1989	Bắc Giang	22.02.2017
9	1700023920	Phạm Thị Minh T	1984	Hà Nội	21.02.2017
10	1700037137	Hoàng Thị Q	1974	Lạng Sơn	04.4.2017
11	203214003	Lê Thị Thúy H	1985	Ninh Bình	20.02.2017
12	1800115315	Vũ Thị T	1993	Hà Nội	13.6.2018
13	1700006367	Bùi Thị H	1991	Hòa Bình	20.02.2017
14	1700087001	Vương Thị M	1991	Hải Dương	01.02.2018
15	41012021	Nguyễn Thị B	1983	Hà Nội	03.07.2017
16	1700136946	Phùng Thị N	1990	Vĩnh Phúc	04.07.2017
17	1600223183	Trần Thị Ngọc L	1992	Hưng Yên	27.10.2016
18	1600223635	Hoàng Thị H	1993	Hà Nội	27.10.2016
19	1700008876	Bùi Thị P	1993	Hà Nội	22.5.2017
20	1700103394	Lộc Thị T	1992	Lạng Sơn	01.6.2017
21	1700076300	Phạm Thanh H	1996	Hải Dương	06.6.2017
22	11147067	Nguyễn Thị H	1991	Hải Dương	17.8.2017
23	1700195906	Ngân Thị T	1900	Thanh Hóa	19.9.2017
24	1700200247	Lê Thị Phương A	1993	Hà Nội	13.9.2017
25	1600107315	Nguyễn Thị T	1992	Bắc Giang	22.11.2016
26	1700138057	Nguyễn Thị Hồng B	1986	Nghệ An	27.6.2017

27	1600099223	Lý Thị N	1988	Bắc Giang	19.6.2017
28	1700135978	Nguyễn Thị Phương T	1993	Bắc Giang	20.6.2017
29	1600248978	Phạm Thị L	1978	Hải Dương	28.11.2016
30	1600193542	Lục Thị K	1990	Hà Nội	19.10.2016
31	1600025613	Lang Thị N	1996	Hòa Bình	19.10.2016
32	1600201285	Vi Thị H	1993	Bắc Giang	25.10.2016
33	1700037653	Nguyễn Thị Phương T	1992	Tuyên Quang	16.3.2017
34	1600274611	Đinh Minh Vũ H	1988	Cao Bằng	28.2.2017
35	1700020564	Nguyễn Thị Thu T	1990	Thái Bình	13.2.2017
36	1700025390	Lê Thị Q	1986	Thanh Hóa	13.3.2017
37	1800017539	Nguyễn Thị H	1991	Hải Dương	28.12.2017
38	1800039663	Nguyễn Thị Thu T	1996	Quảng Ninh	08.02.2018
39	1700292284	Phạm Thị Phương T	1985	Hà Nội	07.12.2017
40	1700263388	Tô Thị Thu H	1989	Hà Nội	21.11.2017
41	1600026504	Cao Thị H	1992	Thanh Hóa	21.11.2017
42	1700290009	Nguyễn Thị Hoài T	1992	Thái Nguyên	02.01.2018
43	1600007081	Nguyễn Thị P	1989	Bắc Ninh	24.01.2016
44	1700274703	Nghiêm Thị Hoài T	1990	Hải Dương	07.12.2017
45	1800050964	Lê Thị T	1988	Hưng Yên	02.4.2018
46	1800030602	Triệu Kim T	1984	Lạng Sơn	03.4.2018
47	1800058359	Nguyễn Thị L	1983	Hà Giang	29.03.2018
48	17582025	Trần Thúy H	1984	Hà Nội	28.3.2018
49	13585045	Đinh Thị Thu H	1985	Hà Nội	26.3.2018
50	1700197734	Đinh Thị L	1985	Bắc Ninh	22.02.2018
51	1800007576	Nguyễn Ngọc H	1997	Hà Nội	22.02.2018
52	1800014582	Trịnh Thị H	1986	Hòa Bình	26.2.2018
53	1800089374	Mùi Thị Đ	1997	Sơn La	08.5.2018
54	49491052	Thân Thị S	1988	Bắc Giang	10.5.2018
55	1800073182	Phạm Thị X	1987	Thanh Hóa	18.4.2018

56	1800046118	Hà Thị L	1992	Lạng Sơn	16.4.2018
57	1700112031	Hoàng Thị N	1998	Vĩnh Phúc	19.4.2018
58	1800019650	Vi Thị H	1987	Nghệ An	21.02.2018
59	41825008	Đào Phương T	1991	Yên Bái	10.01.2018
60	44033008	Đặng Thị T	1987	Quảng Ninh	10.01.2018
61	1700285584	Lô Thị H	1982	Nghệ An	10.01.2018
62	1700274854	Đặng Nhật L	1992	Hà Giang	10.01.2018
63	1800020895	Triệu Thị R	1977	Cao Bằng	06.02.2018
64	1700298914	Đào Lê Thu T	1992	Thanh Hóa	04.01.2018
65	1700004997	Hoàng Thị N	1993	Bắc Giang	07.12.2017
66	1600256295	Nguyễn Thị Kim D	1984	Hà Nội	12.01.2017
67	1700039201	Thạch Thị L	1988	Bắc Giang	21.03.2017
68	105654002	Lê Thị P	1993	Thanh Hóa	21.6.2017
69	1700102137	Vũ Thị H	1990	Thái Bình	12.6.2017
70	1700223417	Đỗ Quỳnh H	1983	Hà Nội	10.10.2017
71	16105051	Nguyễn Thị Thu H	1984	Hà Nội	12.10.2017
72	1700230595	Lò Thị L	1989	Sơn La	12.10.2017
73	1700238767	Vi Thị X	1991	Nam Định	12.10.2017
74	1700240631	Phí Thị Minh H	1989	Phú Thọ	12.10.2017
75	1800027726	Trần Thị M	1990	Hà Nam	07.03.2018
76	1600209877	Phùng Thị H	1972	Lạng Sơn	12.10.2016
77	1600272562	Nguyễn Thị P	1982	Thái Nguyên	28.12.2016
78	404990004	Hà Kim C	1988	Sơn La	18.4.2017
79	1800054246	Bùi Thị N	1995	Quảng Ninh	28.3.2018
80	1700227985	Trịnh Thị P	1983	Thanh Hóa	23.10.2017
81	1700293554	Phạm Thị N	1980	Quảng Ninh	11.12.2017
82	1700013428	Vũ Thị H	1986	Ninh Bình	17.4.2017
83	1700052011	Vũ Thị L	1982	Yên Bái	10.4.2017
84	1700035977	Lại Thị M	1993	Hà Nội	03.4.2017
85	1700096190	Nguyễn Thị L	1991	Hà Nội	09.5.2017

86	1700090125	Hoàng Thị H	1993	Hà Nội	04.5.2017
87	1700059434	Lê Thị V	1987	Thanh Hóa	19.4.2017
88	1700077288	Nguyễn Thị Minh H	1988	Yên Bái	17.4.2017
89	1700058921	Nguyễn Thị N	1991	Hà Nội	09.4.2018
90	1600054036	Bùi Thị C	1985	Hà Nội	04.4.2018
91	1600246186	Nguyễn Thị H	1990	Tuyên Quang	05.4.2018
92	1700205890	Đinh Thị M	1991	Phú Thọ	26.10.2017
93	1700227938	Nguyễn Thị H	1993	Thanh Hóa	25.10.2017
94	1600247940	Nguyễn Thị Th	1997	Hải Phòng	31.10.2017
95	1600105319	Lò Thị K	1991	Sơn La	01.11.2017
96	1700284668	Dương Thị N	1989	Cao Bằng	12.12.2017
97	1700304219	Lường Thị M	1991	Sơn La	28.12.2017
98	1600090932	Phùng Thị B	1988	Hà Giang	30.11.2017
99	1700000565	Lương Thị H	1995	Bắc Ninh	26.4.2018
100	1800024849	Trần Thị L	1992	Vĩnh Phúc	24.4.2018
101	11581045	Nguyễn Thanh H	1989	Hải Dương	24.4.2018
102	1800104016	Nguyễn Thị N	1997	Vĩnh Phúc	04.6.2018
103	1800120176	Đặng Thị S	1985	Hà Tĩnh	21.6.2018
104	1800144528	Chu Thị N	1987	Thái Nguyên	22.8.2018
105	1800145560	Nguyễn Thị T	1994	Bắc Ninh	14.8.2018
106	1800169746	Vì Thị D	1987	Lạng Sơn	14.8.2018
107	1800123764	Trần Thị L	1980	Nam Định	26.6.2018
108	1700228575	Trần Thị H	1988	Thái Nguyên	07.8.2018
109	1800129596	Nguyễn Thị H	1986	Hải Dương	30.7.2018
110	1800154908	Phạm Thị H	1998	Thái Bình	26.7.2018
111	1800100196	Nguyễn Thị Diệu T	1993	Thanh Hóa	26.7.2018
112	1800127902	Đinh Thị Hạnh L	1993	Ninh Bình	18.7.2018
113	1800133887	Dương Việt T	1992	Bắc Cạn	16.7.2018
114	1800133335	Phạm Thị T	1990	Hà Nội	12.7.2018
115	1800059254	Công Thị Y	1979	Bắc Ninh	12.7.2018

116	1700008876	Bùi Thị P	1993	Hà Nội	08.5.2018
117	1800054246	Bùi Thị N	1995	Quảng Ninh	15.7.2015
118	13585045	Đinh Thị Thu H	1985	Hà Nội	26.3.2018
119	1800156794	Lăng Thị H	1991	Lạng Sơn	02.08.2018
120	1800140574	Nguyễn Thị Hải Y	1992	Hà Giang	17.7.2018
121	1700120669	Nguyễn Thị M	1986	Hà Nội	19.6.2017
122	13585045	Đinh Thị Thu H	1985	Hà Nội	16.9.2015
123	1700109523	Nguyễn Thị Bích T	1990	Tuyên Quang	01.6.2017