

THALASSEMIA: BỆNH LÝ DI TRUYỀN GEN ẦN: XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC BỆNH THALASSEMIE, NHỮNG QUAN ĐIỂM MỚI

Lâm Đức Tâm, Đoàn Thanh Điền, Lê Thị Gái, Ngô Thị Thuý Hằng,
Trương Quỳnh Trang, Phạm Đức Lộc*
Trường Đại học Y Dược Cần Thơ
Email: ldtam@ctump.edu.vn

TÓM TẮT

Bệnh tan máu bẩm sinh là bệnh huyết sắc tố gây thiếu máu, tan máu di truyền theo gen ầm, thể bệnh là do bất thường tổng hợp một loại chuỗi globin. Có hai thể bệnh là alpha thalassemia và beta thalassemia; có 7% dân số trên thế giới mang gen bệnh huyết sắc tố, với 60.000- 70.000 trẻ em sinh ra bị bệnh Beta Thalassemia mức độ nặng. Thalassemia là bệnh di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường, do vậy tỷ lệ nam và nữ bị bệnh như nhau. Khi cả vợ và chồng cùng mang gen bệnh thalassemia, mỗi lần sinh có 25% nguy cơ con bị bệnh, 50% khả năng con mang một gen bệnh và 25% khả năng con bình thường. Bệnh nhân thalassemia phải điều trị bằng truyền máu và thải sắt suốt đời với gánh nặng về suy giảm thể chất, áp lực tâm lý, làm ảnh hưởng đến chất lượng cuộc sống của chính người bệnh và vô hình chung trở thành gánh nặng về kinh tế cho gia đình, cho xã hội khi phải gánh chịu chi phí điều trị bệnh, suy giảm hoặc mất nhân công lao động do phải chăm sóc người thân đi viện liên tục. Việc chẩn đoán bệnh lý này thường được phát hiện muộn với biểu hiện lâm sàng thiếu máu mạn tính, xét nghiệm máu như công thức máu hoặc điện di hemoglobin nhưng với sự phát triển về khoa học công nghệ sinh học, việc chẩn đoán sớm trong chẩn đoán trước sinh bằng di truyền gen lặn đã mang lại nhiều khả năng hơn cho chẩn đoán và điều trị bệnh lý di truyền gen lặn Thalassemia.

ABSTRACT

THALASSEMIA: THE HEREDITARY RECESSIVE DISEASE IN SILENT CARRIERS: NEW VIEWPOINTS IN SCREENING TEST

*Lam Duc Tam, Doan Thanh Dien, Le Thi Gai, Ngo Thi Thuy Hang,
Truong Quynh Trang, Pham Duc Loc*
Can Tho university of Medicine and Pharmacy

The thalassemias are a group of hereditary hemolytic anemia disease that result from inherited defects in the synthesis of globin. There are two main forms – alpha thalassemia and beta thalassemia, each with various subtypes; which 7 % of worldwide population carry hemolytic genes, from 60.000 – 70.000 newborns confronted with severe Beta Thalassemia. Thalassemia is an autosomal recessive hereditary, which means the relevance in two genders is equivalent. If both husbands and wives are carriers, one fourth of their descendants are affected, half are heterozygotes, and one fourth are normal. Thalassemia patients require red blood cell transfusion, with or without iron chelation therapy throughout their life, creating burdens to their physical and mental health, negative effects to quality of life. And invisibly, exposes them to be an economic burden for family and society when they suffer huge treatment costs. The establishment of diagnosis is usually late with anemia as a clinical symptom, and through blood test, hemoglobin electrophoresis. However, due to the development of biotechnology science, prenatal diagnosis to carrier screening based on autosomal recessive shows the promise in Thalassemia diagnosis and treatment.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thalassemia (Thal: bệnh tan máu bẩm sinh) là một nhóm bệnh huyết sắc tố gây thiếu máu, tan máu di truyền. Mỗi thể bệnh là do bất thường tổng hợp một loại chuỗi globin. Có

hai thể bệnh chính là alpha thalassemia và beta thalassemia; ngoài ra có các thể phối hợp khác như thalassemia và bệnh huyết sắc tố.

Theo Liên đoàn Thalassemia thế giới năm 2013, có 7% dân số trên thế giới mang gen bệnh huyết sắc tố; với 7% phụ nữ mang thai có gen bệnh huyết sắc tố và khoảng 1,1% cặp vợ chồng có nguy cơ sinh con bị bệnh. Hơn 200 quốc gia và vùng lãnh thổ chịu ảnh hưởng bởi căn bệnh này, trong đó có Việt Nam [17]. Theo ghi nhận của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO)- 2008, bệnh huyết sắc tố ảnh hưởng tới 71% các nước trên thế giới [6]. Mỗi năm có khoảng 60.000 – 70.000 trẻ em sinh ra bị bệnh Beta Thalassemia mức độ nặng. Bệnh huyết sắc tố là nguyên nhân gây ra 3,4% các trường hợp tử vong ở trẻ em dưới 5 tuổi. Bệnh nhân thalassemia được điều trị bằng truyền máu, thải sắt suốt đời, là gánh nặng về suy giảm thể chất, áp lực tâm lý, ảnh hưởng đến chất lượng cuộc sống của chính người bệnh và gánh nặng về kinh tế cho gia đình, cho xã hội, tăng chi phí điều trị bệnh, suy giảm hoặc mất nhân công lao động do phải chăm sóc người thân đi viện liên tục nên ảnh

hưởng rất lớn đến chất lượng dân số và việc cải thiện giống nòi. Tuy nhiên, theo kinh nghiệm của các nước trên thế giới, Thalassemia là bệnh có thể chữa được, phòng được, tiến tới chấm dứt tình trạng phù thai do Thalassemia, tình trạng trẻ sinh ra bị bệnh và giảm dần tỷ lệ di truyền gen bệnh trong cộng đồng, chi phí đầu tư cho phòng bệnh nhỏ hơn rất nhiều so với chi phí điều trị và hiệu quả mang lại rất cao.

Trong khuôn khổ bài viết này, đánh giá thực trạng tình hình mang gen Thalassemia và nguy cơ sinh ra con bị bệnh ở một số lớn các dân tộc của Việt Nam dựa trên kết quả của một đề tài nghiên cứu khoa học về tình hình dịch tễ của Thalassemia ở Việt Nam, từ đó đề xuất các giải pháp để giảm nhanh việc sinh ra trẻ bị bệnh và giảm dần sự lan truyền gen bệnh trong cộng đồng.

II. BỆNH TAN MÁU BẨM SINH THALASSEMIA

1. Cơ chế tổng hợp hemoglobin

a. Tổng hợp hemoglobin ở người bình thường

Huyết sắc tố (Hemoglobin – Hb) là thành phần chủ yếu trong hồng cầu được tạo bởi hai loại chuỗi globin là alpha globin và không alpha globin. Bình thường, mọi cơ thể đều có đủ các gen globin nhưng tùy từng giai đoạn phát triển từ khi hình thành phôi mà có các gen khác nhau hoạt động để tạo nên các loại huyết sắc tố khác nhau [17].

b. Các kiểu đột biến gen globin

α thalassemia (Thal)

Thể nhẹ (người lành mang gen bệnh): bao gồm $\alpha 1$ (anpha 1) và α (anpha 2) Thal, thường là người khỏe, không có biểu hiện bệnh, thậm chí cả xét nghiệm máu cũng bình thường. Ở một số người mang gen α (anpha) Thal có thiếu máu nhẹ. Ở người mang gen α (anpha) Thal ở tuổi trưởng thành không có dấu hiệu nào để có thể chuẩn đoán xác định được nếu không xét nghiệm AND, tiên lượng rất tốt.

Thể vừa (HbH): có biểu hiện là bệnh HbH, là bệnh thiếu máu tan máu có mức độ khác nhau: Từ thiếu máu tan máu nặng phải truyền máu định kỳ từ nhỏ đến thiếu máu tan máu nhẹ không cần truyền máu, nhiều bệnh nhân sống tới tuổi trưởng thành, phát hiện muộn ở người lớn.

Thể nặng (phù thai): Gây thai chết lưu hoặc chết ngay sau sinh [1].

β thalassemia

Thể nhẹ (người mang gen bệnh): Là người có sức khỏe đời sống bình thường, họ chỉ khác biệt với người khác ở chỗ có kích thước hồng cầu nhỏ, hồng cầu nhược sắc và thay đổi

ở thành phần Hb (HbA2 tăng nhẹ hoặc có HbE). Người β Thal thể nhẹ còn gọi là người mang gen bệnh, nếu kết hôn với một người cùng mang gen bệnh thì có khả năng sinh con bị bệnh thể nặng.

Thể vừa: nhóm HbE/ β Thal và một số ít người bệnh mang 2 đột biến nhẹ β Thal.

Thể nặng: Tiên lượng xấu với 80% bệnh nhân tử vong trong 5 năm đầu. Là thể được quan tâm nhiều nhất, do biểu hiện thiếu máu nặng, vàng da, lách to ngay ở trẻ nhỏ (năm đầu sau sinh). Bệnh nhân phải truyền hồng cầu thay thế và thải sắt suốt đời để có cuộc sống bình thường. Nếu việc điều trị trên không thực hiện, bệnh nhân có biến chứng như lách to, gan to, nhiễm sắt ở tim, gan, tuyến nội tiết, biến dạng xương... làm ảnh hưởng xấu đến tình trạng sức khỏe, thể chất và đời sống của người bệnh. ở nước ta β Thal thể nặng gồm 2 nhóm: Nhóm 1 gọi là β Thal dị hợp tử (có 2 đột biến β Thal trên 2 nhiễm sắc thể 11); Nhóm 2: nhóm HbE/ β Thal có 1 đột biến β Thal và đột biến tạo HbE) [1].

2. Đặc điểm lâm sàng bệnh Thalassemia

Do sự đa dạng về đột biến gen mà tùy theo số lượng đột biến, kiểu đột biến, sự phối hợp các đột biến mà có nhiều mức độ biểu hiện bệnh khác nhau từ: thể ẩn (không có biểu hiện lâm sàng- người mang gen bệnh); mức độ trung bình và nặng- người bệnh có biểu hiện lâm sàng và phải điều trị định kỳ; mức độ rất nặng (tử vong từ trong bào thai – do Hb Bart gây phù thai) [17]. Bệnh nhân Thal có triệu chứng xuất hiện từ từ, kéo dài liên tục suốt cuộc đời. Các hội chứng và triệu chứng thường gặp [17]

- Hội chứng thiếu máu mạn tính: Mệt mỏi, chóng mặt, chậm lớn (trẻ nhỏ); Khó thở khi gắng sức, nhịp tim nhanh; Da xanh, niêm mạc nhợt.

- Hội chứng tan máu mạn tính: Củng mạc mắt vàng, nước tiểu sẫm màu; Lách to, gan to.

- Tăng sinh tủy xương tạo máu phản ứng: Phì đại các xương dẹt làm biến dạng đầu, mặt như trán dô, mũi tẹt, bướu cằm.

- Quá tải sắt: Da xám đen, da khô.

- Tổn thương các cơ quan như: suy tuyến nội tiết gồm suy tuyến yên làm chậm phát triển thể chất, suy tuyến sinh dục làm dậy thì muộn, mãn dục sớm, đái tháo đường; suy tim; xơ gan, suy gan; loãng xương, ...

- Thời gian xuất hiện: Với thể nặng, trẻ có biểu hiện sớm khi vài tháng tuổi; các mức độ nhẹ hơn thì thời gian xuất hiện các triệu chứng muộn hơn.

3. Điều trị

Hai biện pháp chính điều trị bệnh Thal là truyền máu và thải sắt và kèm một số biện pháp khác được áp dụng trong điều trị Thal cho trường hợp cụ thể [17]

Truyền máu: Do bị thiếu máu mạn tính, bệnh nhân cần phải truyền máu định kỳ, mục đích là duy trì nồng độ huyết sắc tố trước truyền là 90 -100g/l (đối với nhóm nặng, phụ thuộc truyền máu). Khoảng cách giữa các lần truyền máu là 2 – 5 tuần. Chế phẩm máu là khối hồng cầu, không dùng máu toàn phần.

Thải sắt: Mục đích để chống quá tải sắt nhằm hạn chế biến chứng trên các tổ chức, cơ quan trong cơ thể. Bệnh nhân thường phải duy trì dùng thuốc thải sắt cả đời.

Cắt lách: chỉ định khi bệnh nhân tăng nhu cầu truyền máu; Lách to gây cản trở sinh hoạt hàng ngày của người bệnh; Giảm bạch cầu hoặc tiểu cầu do cường lách.

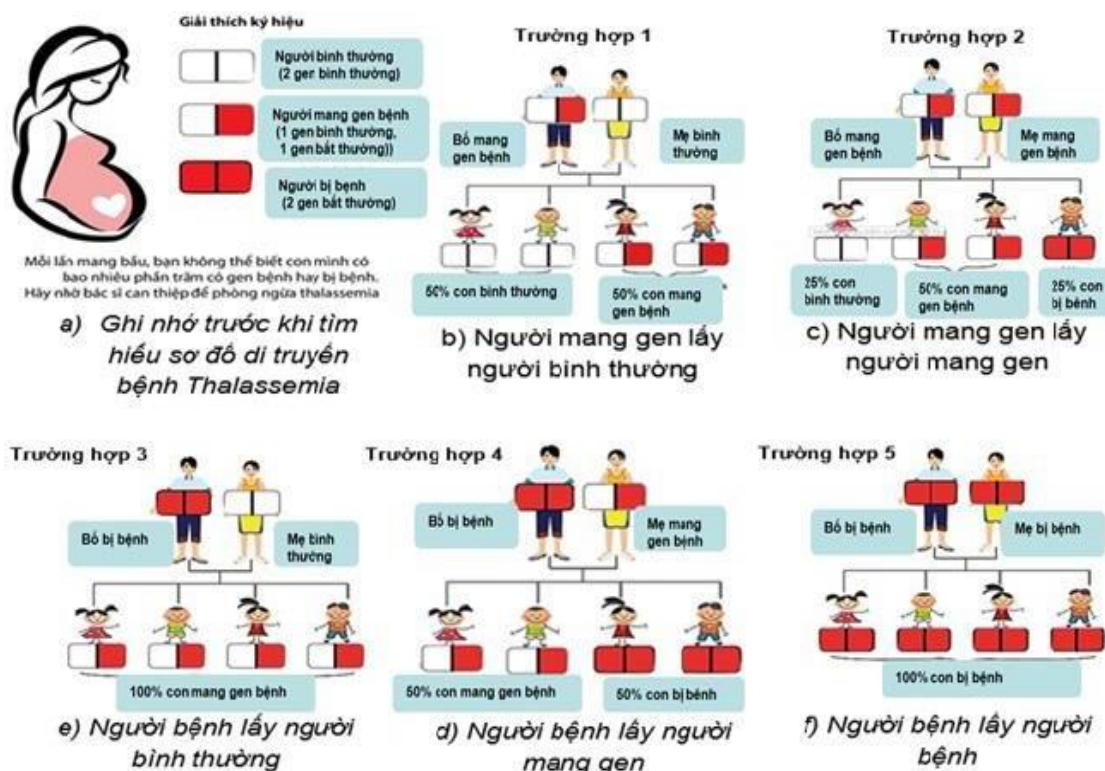
Ghép tế bào gốc: Là phương pháp điều trị hiện đại, có thể chữa khỏi bệnh, tuy nhiên khả năng có người cho phù hợp HLA là rất thấp và chi phí điều trị rất tốn kém. Hơn nữa nếu bệnh nhân đã bị nhiễm sắt nặng tại gan, tim... thì tỷ lệ thành công thấp.

Chăm sóc toàn diện: Đề phòng ngừa và hạn chế các biến chứng, nâng cao chất lượng cuộc sống cho người bệnh.

Điều trị biến chứng: Tùy theo biểu hiện, điều trị biến chứng như suy tuyến nội tiết đái tháo đường, suy tim, xơ gan, loãng xương, rối loạn đông máu...

4. Cơ chế di truyền bệnh thalassemia

Thalassemia là bệnh di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường. Khi cả vợ và chồng cùng mang gen bệnh thalassemia: mỗi lần sinh có 25% nguy cơ con bị bệnh, 50% khả năng con mang một gen bệnh và 25% khả năng con bình thường.



Hình 1: Cơ chế di truyền bệnh Thalassemia

5. Chẩn đoán trước sinh thalassemia

a. Chẩn đoán trước sinh có xâm lấn

Các phương pháp chẩn đoán trước sinh có xâm lấn cho bệnh nhân bị bệnh Thalassemia là các phương pháp xác định kiểu gen của các mẫu sinh học của thai nhi bằng kỹ thuật sinh học phân tử. Các mẫu sinh học của thai nhi có thể gồm dịch ối, gai nhau, mẫu máu cuống rốn. Các mẫu sinh học này được thu thập thông qua các phương pháp xâm lấn như chọc ối, sinh thiết gai nhau, lấy máu cuống rốn. Sinh thiết gai rau được thực hiện bằng cách lấy mẫu bánh nhau từ từ cung bằng catheter (một ống dài) hay một kim chọc qua đường bụng hay đường âm đạo của thai phụ dưới hướng dẫn của siêu âm. Chọc hút dịch ối được thực hiện bằng cách dùng một kim rất nhỏ xuyên qua thành bụng vào buồng tử cung dưới hướng dẫn của siêu âm và hút một lượng nhỏ nước ối cần thiết đủ phục vụ chẩn đoán. Chọc hút máu dây rốn dưới sự hướng dẫn của siêu âm, một đầu kim tiêm được đưa qua thành

bụng của thai phụ vào buồng tử cung, vào mạch máu trong dây rốn, khoảng 1cm từ vị trí bánh nhau để thu máu dây rốn. Các phương pháp trên dựa trên lượng lớn DNA thu được từ thai nhi nên độ chính xác cao, được coi là tiêu chuẩn vàng trong chẩn đoán trước sinh.

Phương pháp chẩn đoán trước sinh xâm lấn có độ chính xác cao nhưng cần lưu ý tình trạng nhiễm máu mẹ trong quá trình thu mẫu. Kim thu mẫu phải xuyên qua hàng rào rau thai và dây rốn, có khả năng lẫn với máu mẹ, có thể gây chẩn đoán không chính xác. Hiện tượng này có thể dẫn tới việc thai nhi không mang tổn thương gen nhưng cho kết quả dị hợp tử do bị nhiễm mẫu của mẹ. Để kiểm soát tình trạng này, cần tiến hành các biện pháp kiểm soát nhiễm ở tất cả các giai đoạn của quá trình chẩn đoán như giai đoạn thu mẫu, giai đoạn chẩn đoán. Ở giai đoạn thu mẫu, khi chọc hút dịch ối, cần loại bỏ 1-2ml dịch đầu tiên nhằm giảm nguy cơ nhiễm mẫu từ mẹ. Giai đoạn phân tích mẫu, có thể tiến hành nuôi cấy dịch ối trong dung dịch chuyên dụng trong vòng từ 5-10 ngày để không cho tế bào máu của mẹ phát triển hoặc sử dụng STR linkage của gia đình để theo dõi mẫu thu được có bị nhiễm hay không. Đối với mẫu sinh thiết gai rau, có thể nguy cơ nhiễm máu mẹ cao hơn (<5%), vì rất khó loại bỏ triệt để tế bào của mẹ khỏi các tế bào của thai nhi. Mặt khác, nuôi cấy mẫu gai rau sinh thiết đều làm tăng nguy cơ nhiễm tế bào máu mẹ vì cả tế bào mẹ và thai nhi đều là một phần của cùng một mẫu mô [6], [12]. Về mặt thời gian, các phương pháp xâm lấn trên đều được tiến hành muộn: phân tích gai nhau được tiến hành từ tuần thứ 11-14; phân tích dịch ối được tiến hành từ tuần thứ 16-20; phân tích máu dây rốn được tiến hành ngoài 18 tuần. Bên cạnh đó, phương pháp xâm lấn có nguy cơ sảy thai (0,05-2%), rò ối, nhiễm khuẩn ối, lây truyền các bệnh truyền nhiễm cho thai (HIV, Viêm gan B, C, D...), có thể gây ảnh hưởng bất lợi tới thai nhi ở những sản phụ bất đồng nhóm máu Rh với thai... Do đó, sản phụ cần được tư vấn đầy đủ về khả năng gây sảy thai của thủ thuật trước khi họ quyết định tham gia. Trường hợp thai bị bệnh, thai phụ phải đứng trước nguy cơ đình chỉ thai nghén; đặc biệt khi tuổi thai lớn. Như vậy, việc can thiệp thai kỳ gây ra ảnh hưởng đến sức khỏe và tâm lý của sản phụ.

b. Chẩn đoán trước sinh không xâm lấn

Chẩn đoán trước sinh không xâm lấn (non-invasive prenatal testing - NIPT) dựa trên việc phân tích DNA thai nhi tự do (cell free fetal DNA - cffDNA) trong huyết tương của mẹ, nguồn gốc từ lá nuôi phôi (trophoblasts). CffDNA có thể phát hiện sớm nhất ở tuần thứ 7 của thai kỳ, lượng cffDNA tăng theo thai kỳ. Kích thước trung bình cfDNA < 300bp, nhỏ hơn rất nhiều so với các mảnh DNA tự do của mẹ [9].

Sử dụng NIPT đã được áp dụng phổ biến trong sàng lọc trước sinh lệch bội nhiễm sắc. Bên cạnh đó, thế giới đã có nhiều tiến bộ đạt được trong việc phát triển NIPT cho bệnh di truyền đơn gen [10], [15]. Theo một số nghiên cứu, Thalassemia là một bệnh điển hình trong việc áp dụng hướng tiếp cận này. NIPT là công cụ mạnh mẽ để làm rõ tình trạng đột biến của thai nhi ngay cả trong quần thể có mức độ đa dạng di truyền thấp, nơi bố mẹ có chung một đột biến. Chi phí giải trình tự giảm thấp trong thời gian gần giúp NIPT trở thành một lựa chọn hợp lý trong chăm sóc trước khi sinh. Ngoài ra, sự xuất hiện của cfDNA từ rất sớm trong thai kỳ, nên phương pháp này bệnh lý di truyền đơn gen có thể tiến hành sớm hơn, giúp việc can thiệp thai kỳ sẽ ít tai biến, biến chứng hơn. Tuy nhiên, phương pháp cũng đứng trước những thách thức liên quan đến sự cần thiết phải nhắm mục tiêu vào đột biến phôi thai có nồng độ thấp, chỉ khác nhau một hoặc vài nucleotide từ nền tảng trình tự DNA của mẹ trong huyết tương. So với chẩn đoán trước sinh xâm lấn, phương pháp này đạt độ chính xác 99,1% (95,1-100%) [8]. Mặc dù có độ chính xác cao, nhưng NIPT chỉ nên coi là

một xét nghiệm sàng lọc, có thể xảy ra kết quả âm tính giả. Vì vậy, phương pháp tiếp cận này chưa thể triển khai rộng rãi trên thế giới.

6. Chẩn đoán trước làm tổ các bệnh lý đơn gen

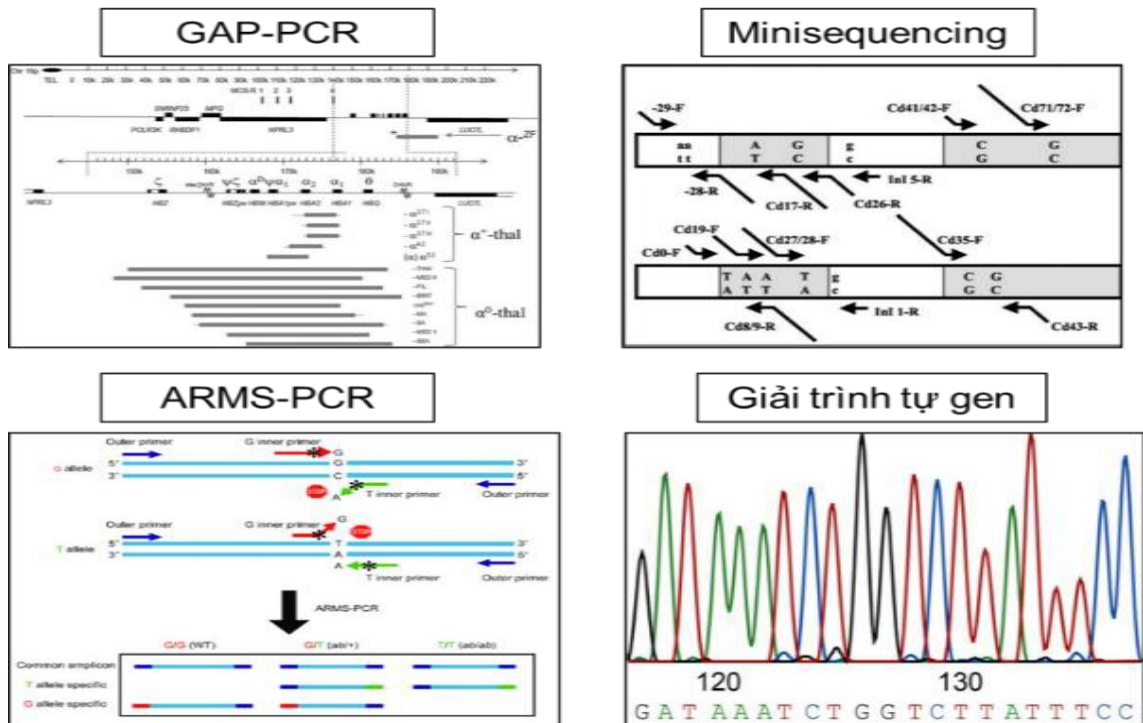
Chẩn đoán trước sinh được thực hiện sớm nhất vào tuần thứ 11 của thai kỳ, là một thủ thuật xâm lấn. Hơn nữa, người phụ nữ phải đình chỉ thai nghén nếu nhận được kết quả thai nhi bị bệnh. Chẩn đoán trước làm tổ bệnh đơn gen (PGT-M) có ưu điểm vượt trội hơn so với chẩn đoán trước sinh khi cho phép các cặp vợ chồng mang gen bệnh có cơ hội lựa chọn phôi không mang gen bệnh hoặc không bị bệnh để mang thai và sinh em bé không bị bệnh.

PGT-M là sự kết hợp phương pháp thụ tinh trong ống nghiệm (In vitro fertilization - IVF) và kỹ thuật sinh học phân tử để tránh sinh con bị bệnh. Thông qua IVF, các gia đình sẽ thu nhận được nhiều phôi; thông qua chẩn đoán phân tử, phôi khỏe mạnh sẽ được xác định để chuyển vào tử cung của người mẹ. PGT-M bao gồm 2 phương pháp chẩn đoán là chẩn đoán trực tiếp và chẩn đoán gián tiếp. Hiện nay, theo khuyến cáo của Hiệp hội Sinh sản và Phôi thai Châu Âu (ESHRE) năm 2020, PGT-M cần phải được sử dụng đồng thời 2 phương pháp này.

a. Phương pháp chẩn đoán trực tiếp trong PGT-M

Có nhiều phương pháp chẩn đoán trực tiếp bệnh thalassemia tùy thuộc vào dạng đột biến. Các kỹ thuật cũng tăng độ chính xác và khả năng phát hiện đột biến thông qua việc sử dụng từ các phương pháp PCR thông thường cho tới giải trình tự gen. Đồng thời do vật liệu di truyền dùng để chẩn đoán ít, chỉ từ vài tế bào phôi do đó kỹ thuật WGA - Whole genome amplification được áp dụng để khuếch đại toàn bộ hệ gen, qua đó đảm bảo vật liệu di truyền phục vụ chẩn đoán.

Trong hàng chục năm trở lại đây, phương pháp chẩn đoán trực tiếp đã được áp dụng rộng rãi và không ngừng nâng cao độ chính xác. Ưu điểm của phương pháp là xác định được trực tiếp đột biến quan tâm hoặc có thể phát hiện được những loại đột biến mới [5]. Tuy nhiên do số lượng đột biến thalassemia quá phức tạp, nên khi áp dụng vào thực tế chẩn đoán lại khó khăn do phải thiết kế cho nhiều đột biến khác nhau, đặc biệt đối với các bệnh nhân có các đột biến hiếm gặp. Mặt khác trong chẩn đoán di truyền trước chuyển phôi, lượng DNA đầu vào là rất ít, rất khó kiểm soát ngoại nhiễm; đồng thời có tỷ lệ mất alen (ADO) rất lớn, lên tới 25%, có thể dẫn tới tình trạng âm tính giả [11]. Thực tế, tỉ lệ chẩn đoán sai nếu chỉ dùng đơn độc phương pháp trực tiếp là từ 1-3% và con số này có lẽ còn cao hơn do hạn chế về báo cáo từ các trung tâm IVF [9]. Ở Việt Nam, trong một số năm trở lại đây đã áp dụng một kỹ thuật trực tiếp như minisequencing và StripAssay trong xét nghiệm di truyền trước chuyển phôi. Tuy nhiên, cả 2 kỹ thuật này đều xác định trực tiếp các tổn thương gen mà không kiểm soát được hiện tượng ADO và ngoại nhiễm nên kết quả chưa thể tin cậy hoàn toàn [1], [2]. Do vậy, phương pháp phân tích gián tiếp hay phân tích di truyền liên kết được đề xuất và mang tính chất bắt buộc, và thậm chí khuyến cáo này đã tồn tại được hàng chục năm [9].



Hình 2. Một số phương pháp chẩn đoán trực tiếp trong PGT-M thalassemia

b. Phương pháp chẩn đoán gián tiếp

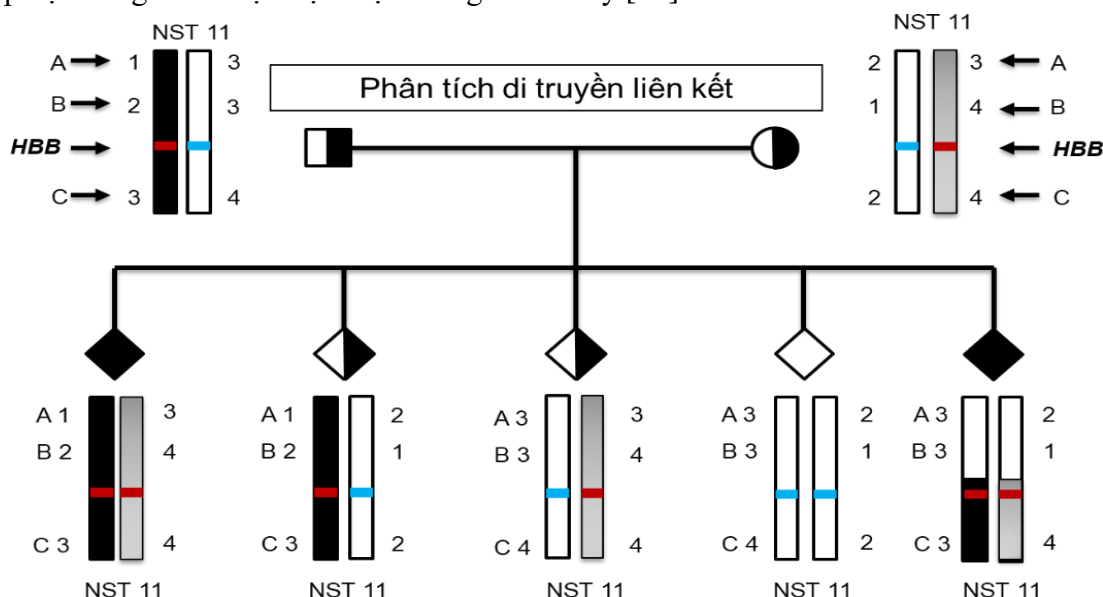
Kỹ thuật gián tiếp hay kỹ thuật phân tích di truyền liên kết là một kỹ thuật sử dụng các chỉ thị phân tử để xác định gián tiếp các haplotype mang đột biến và theo dõi sự di truyền của chúng cho các thế hệ sau. Các chỉ thị này có thể là các trình tự lặp ngắn – STR hoặc đa hình đơn -SNP. Trong đó các STR được sử dụng rộng rãi hơn do mang tính bảo thủ cao và dễ dàng phân tích phục vụ chẩn đoán. Mỗi chỉ thị có vai trò như một vệ tinh quan sát và đại diện cho sự di truyền của đột biến. Do vậy chúng có thể kiểm soát được hiện tượng ngoại nhiễm và ADO. Đồng thời số chỉ thị càng nhiều thì độ chính xác của phân tích di truyền liên kết nói riêng và PGT-M nói chung sẽ càng cao.

Trong suốt 2 thập kỉ qua, phương pháp PGT-M kết hợp giữa phương pháp chẩn đoán trực tiếp và gián tiếp vẫn là phương thức phổ biến và hiệu quả nhất [15]. Mặc dù vậy phương pháp vẫn tồn tại nhược điểm đó là thời gian thiết lập quy trình cho 1 gia đình kéo dài do phải sàng lọc các STR phù hợp cho từng gia đình. Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu xây dựng bộ chỉ thị STR phục vụ PGT-M thalassemia [4], [14], [7]. Tuy nhiên bộ chỉ thị STR lại có tính chủng tộc, do đó để áp dụng vào quần thể người Việt Nam thì cần phải khảo sát được một bộ chỉ thị riêng. Và một bước tiến lớn trong PGT-M thalassemia, Đặng Tiến Trường và cộng sự (2019) xây dựng thành công bộ chỉ thị gồm 15 STR phục vụ PGT-M β -thalassemia cho quần thể người Việt Nam và có 5 trẻ khỏe mạnh được sinh ra cũng như nhiều trường hợp khác đang thực hiện phương pháp này [3].

Hiện nay một số kỹ thuật mới đã được phát triển như SNP-array hay giải trình tự gen thế hệ mới đem lại độ chính xác cao và có khả năng rút ngắn thời gian thực hiện kỹ thuật [15]. Ở Việt Nam, Đào Mai Anh và cộng sự (2020) cũng đã thực hiện PGT-M và PGT-A cùng lúc trên hệ thống giải trình tự gen thế hệ mới thông qua các SNPs. Tuy nhiên những phương pháp này còn gặp một trở ngại rất lớn là yêu cầu quá cao về cơ sở vật chất để phục

vụ phân tích, do vậy chỉ mới bước đầu được thực hiện ở một số cơ sở trên thế giới với tính áp dụng vào thực tế chưa cao.

Bên cạnh đó, đối với những cặp vợ chồng đã sinh ra những người con bị bệnh muốn tiến hành ghép tủy xương lấy từ người con khỏe mạnh mà họ dự kiến muốn sinh ra, thì kỹ thuật PGT-M kết hợp với PGT-HLA (PGT xác định yếu tố hòa hợp gen HLA) sẽ giúp các cặp vợ chồng có cơ hội thực hiện mong muốn này [13].



Hình 3. Phân tích di truyền liên kết trong PGT-M

III. NGUY CƠ SINH CON BỊ BỆNH THALASSEMIA

Trong nghiên cứu này, dựa trên tỷ lệ của từng kiểu đột biến, từng thể bệnh của từng dân tộc, đồng thời dựa vào số lượng dân số thuộc từng dân tộc của mỗi tỉnh, chúng tôi tiến hành ước tính tỷ lệ trẻ sinh ra mỗi năm có nguy cơ bị bệnh lý thalassemia.

Với p là tỷ lệ mang gen thalassemia, Liên đoàn Thalassemia quốc tế (TIF) đưa ra công thức ước tính như sau: Tỷ lệ trẻ sinh ra bị bệnh/năm = p (%) x p (%) x 0,25

Dựa trên tỷ lệ mang gen thalassemia/huyết sắc tố của từng dân tộc, với giả thuyết nam nữ trong cùng cộng đồng (dân tộc, tỉnh) kết hôn với nhau một cách ngẫu nhiên, nếu không được tư vấn và chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia, chúng ta có thể ước tính tỷ lệ trẻ sinh ra bị bệnh/1000 ca sinh của từng địa phương. Những con số rất đáng chú ý và báo động như: Tất cả 63 tỉnh và 54 dân tộc đều có người mang gen bệnh thalassemia; tỷ lệ mang gen chung trên toàn quốc ước tính là 13,8% (khoảng 13- 14 triệu người); sự phân bố của bệnh có tính dân tộc và địa lý rõ rệt [1].

IV. THALASSEMIA, NGUYÊN NHÂN VÀ HẬU QUẢ

1. Những nguyên nhân chủ yếu dẫn đến việc tỷ lệ mang gen Thalassemia cao, tỷ lệ sinh con bị bệnh cao và chất lượng sống của bệnh nhân thấp

Hiểu biết về bệnh Thalassemia còn rất hạn chế: Việc truyền thông, phổ biến kiến thức về bệnh Thal của cơ quan có trách nhiệm tới cộng đồng mới được thực hiện trong vài năm gần đây nên hiểu biết về bệnh còn rất ít. Nhận thức về sức khỏe nói chung và bệnh Thal nói riêng chưa được quan tâm đúng mức, người dân có thói quen chỉ khi bị bệnh

mới đi khám và điều trị nên việc phát hiện ra bệnh thường muộn, kiến thức phòng bệnh còn chưa được chú trọng.

Kết hôn cận huyết thống: Việc kết hôn cận huyết và tảo hôn vẫn đang hiện hữu ở nhiều dân tộc thiểu số dẫn đến nguy cơ sinh con bị bệnh và di truyền nguồn gen bệnh trong cộng đồng là rất đáng báo động.

Tính chất di truyền của bệnh: Bệnh di truyền từ bố mẹ cho con, tính chất bệnh thâm lặn, không gây nguy hiểm ngay đến tính mạng. Trẻ rất nặng chết ngay trong bào thai mà không được xác định nguyên nhân. Trẻ nặng và trung bình chỉ xuất hiện sau khi ra đời một thời gian nên nếu không có kiến thức và điều kiện thì người bệnh không được quan tâm đúng mức.

Chính sách của nhà nước

- Chính phủ và Bộ Y tế xây dựng một chương trình dành riêng cho bệnh này. Mới chỉ có phần trong Chương trình mục tiêu Y tế dân số giai đoạn 2016-2020: Dự án 6 về đảm bảo máu an toàn và phòng, chống một số bệnh lý huyết học. Hiện nay, đang lồng ghép vào chương trình sàng lọc trước sinh theo quyết định của Bộ Y tế.

- Các chính sách về dân số chưa chú trọng đến các bệnh di truyền bẩm sinh, đặc biệt là bệnh thalassemia. Chưa có quy định bắt buộc phải được tư vấn sức khỏe di truyền trước hôn nhân nên nhiều cặp đôi mang gen bệnh lây nhau mà không biết.

Điều kiện kinh tế

- Do là một nước vừa mới thoát khỏi nhóm nước chậm phát triển trở thành nước có thu nhập trung bình thấp nên ở cấp độ nhà nước, việc dành kinh phí cho truyền thông, phổ biến kiến thức về bệnh còn chưa được đáp ứng tốt.

- Do nhận thức còn hạn chế, thu nhập bình quân thấp nên người dân chưa dành ưu tiên chi tiêu cho việc sàng lọc bệnh thalassemia.

2. Hậu quả của việc tỷ lệ mang gen cao trong cộng đồng và sinh con bị bệnh

Đối với xã hội

- Chất lượng dân số, chất lượng giống nòi bị ảnh hưởng nghiêm trọng. Với tỷ lệ mang gen bệnh 13,8%, nếu không được ngăn chặn kịp thời, số người mang gen sẽ ngày một tăng lên. Khi đó tỷ lệ trẻ sinh ra bị bệnh cũng ngày một tăng lên làm cho gánh nặng bệnh tật và chi phí xã hội ngày càng tăng.

- Chi phí điều trị trung bình cho một bệnh nhân thể nặng từ khi sinh ra tới 30 tuổi hết khoảng 3 tỷ đồng. Mỗi năm cần có trên 2.00 tỷ đồng để cho tất cả bệnh nhân có thể được điều trị tối thiểu (truyền máu và thải sắt) và cần có khoảng 500.000 đơn vị máu an toàn chiếm 1/3 lượng máu cả nước (năm 2018, cả nước tiếp nhận khoảng 1.500.000 đơn vị máu). Với chi phí như vậy sẽ làm cho đất nước càng nghèo hơn.

Đối với bệnh nhân và gia đình

- Chất lượng sống của người bệnh rất thấp: chậm phát triển thể lực, tổn thương nhiều cơ quan trong cơ thể như suy tim, suy gan, suy tuyến nội tiết. Bệnh nhân Thal có trình độ học vấn thấp và không có nghề nghiệp: do sức khỏe kém lại thường xuyên phải nghỉ học để điều trị bệnh nên phải bỏ học, lớn lên không có nghề nghiệp, sống phụ thuộc vào người khác (45,5%, nghiên cứu tại Viện Huyết học- Truyền máu Trung ương).

- Kinh tế gia đình bệnh nhân Thal bị ảnh hưởng lớn do bố mẹ phải nghỉ làm đưa con đi bệnh viện và chi phí cho mỗi lần điều trị là không nhỏ đặc biệt với các gia đình ở nông thôn, miền núi và với các gia đình có nhiều người con đều bị bệnh Thal.

- Ảnh hưởng tâm lý gia đình và bệnh nhân: Nhiều gia đình ly hôn sau khi sinh ra những đứa con bị bệnh, bị kỳ thị, những anh chị em của bệnh nhân sẽ gặp khó khăn khi kết hôn, 84,6% bệnh nhân bị mặc cảm về bệnh tật. Tâm lý, tình cảm gia đình của bệnh nhân bị ảnh hưởng nặng nề (9,8% bố mẹ bệnh nhân ly hôn vì lý do con bị bệnh, 14,2% bệnh nhân không gia đình quan tâm).

- Những người mang gen bệnh không biết về căn bệnh này, không biết là mình đang mang gen bệnh do vậy tỷ lệ hai người cùng mang gen bệnh kết hôn với nhau càng cao dẫn đến ngày có có nhiều trẻ sinh ra bị bệnh (8.000 trẻ bị bệnh ra đời hàng năm).

- Những hậu quả trên đây cho thấy, Thal đang là vấn đề của toàn xã hội, ảnh hưởng sâu rộng tới cộng đồng, tới chất lượng dân số và sự phát triển giống nòi.

V. ĐỀ XUẤT CÁC GIẢI PHÁP

1. Các giải pháp chủ yếu

Giải pháp về chính sách và nguồn lực

- Bộ Y tế đề xuất với Chính phủ phê duyệt Chương trình mục tiêu về Thal, giai đoạn 2021- 2015; 2026- 2030 và các giai đoạn tiếp theo nhằm mục tiêu hướng đến loại trừ việc sinh ra các trẻ bị bệnh Thal vào năm 2045. Chương trình tiến hành với các nội dung truyền thông, giáo dục sức khỏe, tập huấn, đào tạo, nâng cao kiến thức về bệnh thalassemia cho toàn xã hội, tập trung vào các đối tượng người bệnh, người nhà người bệnh, nhân viên y tế thôn bản, các dân tộc thiểu số có tỷ lệ mang gen cao.

- Đưa vào luật Hôn nhân và Gia đình điều khoản bắt buộc sàng lọc Thal trước khi kết hôn. Xây dựng và ban hành các chính sách liên quan đến tư vấn trước hôn nhân, sàng lọc trước sinh, chẩn đoán trước sinh và đề xuất bảo hiểm thanh toán chi phí. Tuyên truyền các chính sách về dân số, tránh nạn tảo hôn và kết hôn cận huyết.

Giải pháp về truyền thông, nâng cao nhận thức

- Xây dựng mạng lưới để tuyên truyền, phổ biến kiến thức cho cộng đồng, đặc biệt là học sinh, sinh viên: Phối hợp các đơn vị như Hội Chữ Thập đỏ, Tổng cục dân số, Hội Tan máu bẩm sinh Việt Nam, Viện Huyết học- Truyền máu Trung ương,...

- Xây dựng hệ thống tài liệu, đào tạo giảng viên, tuyên truyền viên

- Đưa kiến thức phòng, chống bệnh Thal vào sách giáo khoa sinh học của học sinh trung học phổ thông để giáo dục các học sinh hiểu biết về bệnh Thal trước tuổi hôn nhân.

Giải pháp về phát triển mạng lưới và nguồn nhân lực

- Nâng cao kỹ năng chẩn đoán, điều trị, chăm sóc, quản lý người bệnh ở cơ sở y tế

+ Cần có sự chỉ đạo thống nhất từ cấp trung ương đến địa phương

+ Đầu tư về nhân lực, trang thiết bị y tế cho các cơ sở y tế để đảm bảo điều kiện có thể chẩn đoán, điều trị, chăm sóc và quản lý Thal

+ Có chương trình đào tạo, cập nhật thường xuyên cho cán bộ y tế về Thal

+ Đưa nội dung chẩn đoán, chăm sóc, điều trị và phòng bệnh Thal vào chương trình nâng cao năng lực hệ thống y tế cơ sở

+ Đưa xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu là xét nghiệm cơ bản được sử dụng hiệu quả, phổ biến tại các cơ sở y tế và được bảo hiểm y tế chi trả

+ Tiếp tục đẩy mạnh phong trào vận động hiến máu để đảm bảo có đủ nguồn máu an toàn cho người bệnh thalassemia.

- Giảm dần và chấm dứt việc sinh ra trẻ bị bệnh và/hoặc mang gen bệnh:

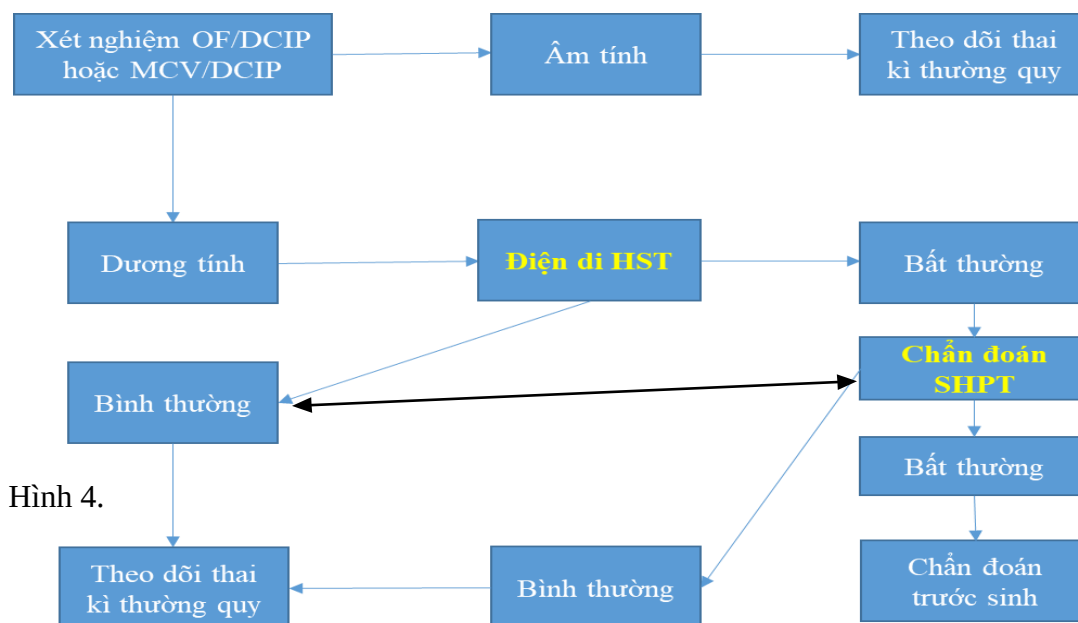
+ Tư vấn trước khi kết hôn: Đưa bệnh thalassemia vào chương trình sàng lọc cho các cặp đôi trước kết hôn.

- + Sàng lọc trước sinh: Đưa bệnh Thal vào danh sách các bệnh cần sàng lọc
- + Đưa xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu là xét nghiệm bắt buộc đối với các sản phụ đến khám thai lần đầu
- + Tuyên truyền, vận động các gia đình có con trong độ tuổi học sinh phổ thông tự nguyện tham gia sàng lọc bệnh Thal
- + Bảo hiểm y tế nên xem xét thanh toán chi phí chẩn đoán trước sinh.

2. Phòng ngừa bệnh thalassemia

Bệnh thalassemia là gánh nặng cả về vật chất và tinh thần đối với người bệnh và người thân của họ. Do vậy việc phòng ngừa và quản lý căn bệnh này là hết sức quan trọng. Đã có nhiều quốc gia trên thế giới triển khai hoàn chỉnh hệ thống phòng ngừa căn bệnh này, bắt đầu từ việc nâng cao ý thức cộng đồng, giáo dục sức khỏe, sàng lọc người mang gen bệnh, tư vấn di truyền, chẩn đoán trước sinh và thậm chí là khuyến khích đình chỉ thai kì đối với các trường hợp xác định thai nhi mắc thể nặng.

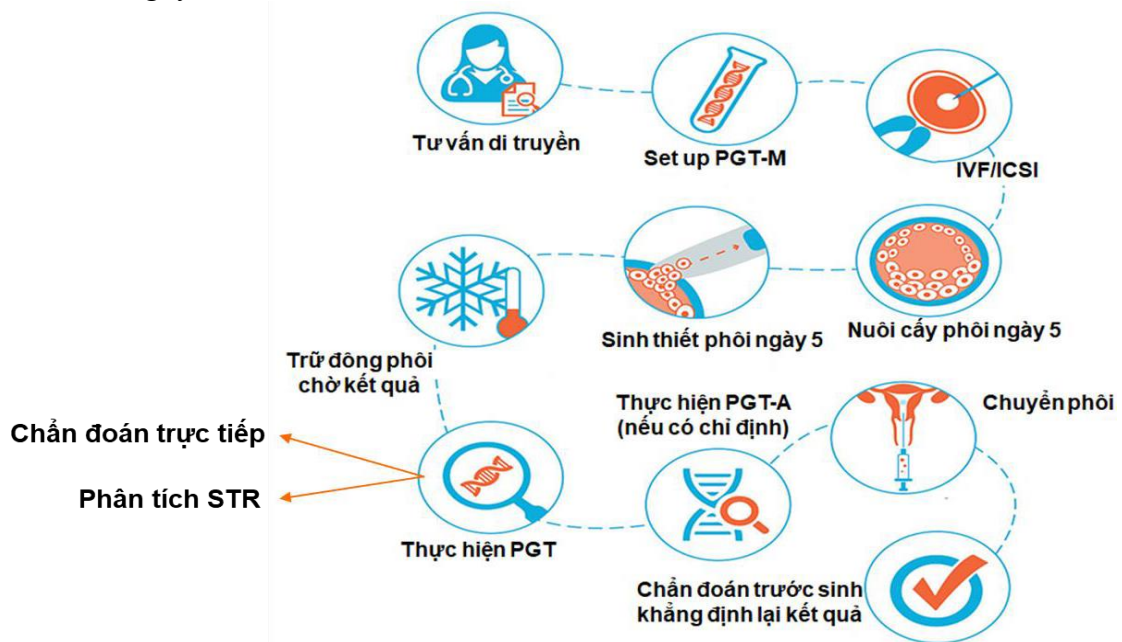
Cách sàng lọc đơn giản và hiệu quả nhất người mang gen bệnh đó chính là xét nghiệm công thức máu để phát hiện ra các trường hợp có $MCV < 85 \text{ fl}$ và $MCH < 28 \text{ pg}$. Tuy nhiên với những nơi không có điều kiện thuận lợi về mặt trang thiết bị phục vụ đánh giá công thức máu, có thể thay thế sàng lọc bằng cách sử dụng xét nghiệm sức bền hồng cầu (OF test) và xét nghiệm sàng lọc huyết sắc tố E (DCIP test). Các cá thể nghi ngờ sẽ được tiếp tục thực hiện điện di huyết sắc tố và chẩn đoán sinh học phân tử nhằm xác định bệnh thalassemia cho các cá nhân. Các cặp vợ chồng có cả 2 cá thể đều dương tính trong quá trình sàng lọc sẽ được gọi là cặp vợ chồng nguy cơ. Họ sẽ cần phải được tư vấn di truyền và chẩn đoán trước sinh nếu đang trong thai kì.



Chiến lược sàng lọc trước sinh cho các cặp vợ chồng nguy cơ

Bên cạnh đó, các cặp đôi nguy cơ có nhu cầu muốn được sinh ra những người con khỏe mạnh có thể tìm đến phương pháp IVF/PGT-M. Đây là phương pháp triệt để nhất trong phòng bệnh thalassemia. Mặc dù chi phí cho IVF/PGT-M không hề nhỏ, tuy nhiên phương

pháp này đảm bảo cho cả sức khỏe của thai nhi cũng như sức khỏe của người mẹ khi có thể tránh được nguy cơ đình chỉ thai kì.



Hình 5. Quy trình IVF/PGT-M cho các cặp vợ chồng nguy cơ

VI. KẾT LUẬN

1. Thalassemia/bệnh huyết sắc tố ở nước ta là vấn đề nghiêm trọng, đe dọa chất lượng dân số và giống nòi, tại 63 tỉnh và 54 dân tộc đều có người mang gen bệnh thalassemia; tỷ lệ mang gen chung trên toàn quốc ước tính là 13,8% (khoảng 13- 14 triệu người); sự phân bố của bệnh có tính dân tộc và địa lý rõ rệt.

2. Ước tính nguy cơ và tỷ lệ thai nhi bị phù thai, trẻ sinh ra bị bệnh thalassemia thể nặng đang tăng, cần tiến hành ngay các giải pháp can thiệp đủ mạnh và kịp thời để giảm tỷ lệ phù thai hoặc trẻ sinh ra bị bệnh thalassemia thể nặng.

3. Rất cần có ngay các chính sách về y tế và dân số để nâng cao nhận thức người dân, giảm dần tỷ lệ mang gen bệnh thalassemia, giảm dần tiến tới chấm dứt việc tỷ lệ phù thai và sinh ra trẻ bị bệnh thể nặng trong cộng đồng.

4. Bệnh thalassemia chưa có phương pháp điều trị hiệu quả, do vậy việc phòng và quản lý bệnh là vô cùng quan trọng. Các biện pháp thiết thực với người dân như phổ biến kiến thức, sàng lọc người mang gen cho tới phương pháp chuyên sâu như chẩn đoán trước sinh và chẩn đoán trước chuyển phôi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ngô Trường Giang (2016), *Nghiên cứu xây dựng quy trình phát hiện đột biến gen gây bệnh - thalassemia trước chuyển phôi bằng phương pháp minisequencing*, Luận văn thạc sĩ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
2. Nguyễn Đình Tảo, Trần Văn Khoa và Quân Hoàng Lâm (2018), *Nghiên cứu xây dựng quy trình chẩn đoán một số bệnh di truyền trước chuyển phôi để sàng lọc phôi thụ tinh trong ống nghiệm*, Đề tài cấp nhà nước, Học viện Quân y.

3. Dang Tien Truong, Ngo Van Nhat Minh, et al. (2019), Short Tandem Repeats Used in Preimplantation Genetic Testing of B-Thalassemia: Genetic Polymorphisms For 15 Linked Loci in the Vietnamese Population, *Open Access Maced J Med Sci*, 7(24), pp. 4383-4388.
4. Aspasia Destouni, George Christopoulos et al, (2012), Microsatellite markers within the α -globin gene cluster for robust preimplantation genetic diagnosis of severe α -thalassemia syndromes in Mediterranean populations, *Hemoglobin*, 36(3), pp. 253-264.
5. Belinda Giardine, Joseph Borg et al. (2014), Updates of the HbVar database of human hemoglobin variants and thalassemia mutations, *Nucleic Acids Res*, 42(D1), pp. D1063-D1069.
6. Bernadette Modella, Matthew Darlisona (2008), Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators, *Bulletin of the World Health Organization*, 86, pp. 480 – 487.
7. Christine Yap, AS Tan et al, (2009), First successful preimplantation genetic diagnosis in Singapore–avoidance of beta-thalassaemia major, *Ann Acad Med Singapore*, 38(8), pp. 720-723.
8. Chen, R. Li et al (2021), Noninvasive prenatal testing of alpha-thalassemia and beta-thalassemia through population-based parental haplotyping, *Genome Med*, 13(1), pp. 18.
9. ESHRE PGT Consortium Steering Committee, Filipa Carvalho et al. (2020), ESHRE PGT Consortium good practice recommendations for the organisation of PGT, *Hum Reprod Open*, 2020(3), pp. 021.
10. Fatima Dahmani, Souad Benkirane et al, (2017), Epidemiological profile of hemoglobinopathies: a cross-sectional and descriptive index case study, *Pan Afr Med J*, 27, pp. 150-150.
11. G. L. Harton, M. De Rycke et al, (2011), ESHRE PGD consortium best practice guidelines for amplification-based PGD, *Hum Reprod Open*, 26(1), pp. 33-40.
12. Schrijver, S. C. Cherny and J. L. Zehnder (2007), Testing for maternal cell contamination in prenatal samples: a comprehensive survey of current diagnostic practices in 35 molecular diagnostic laboratories, *J Mol Diagn*, 9(3), pp. 394-400.
13. Kasorn Tiewisiri, Somjate Manipalviratn et al, (2020), The First Asian, Single-Center Experience of Blastocyst Preimplantation Genetic Diagnosis with HLA Matching in Thailand for the Prevention of Thalassemia and Subsequent Curative Hematopoietic Stem Cell Transplantation of Twelve Affected Siblings, *BioMed Research International*, 2020, pp. 10.
14. Li Fan, Aiping Qin et al (2017), Genetic diagnosis of beta-thalassemia preimplantation using short tandem repeats in human cryopreserved blastocysts, *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 10(7), pp. 7586-7595.
15. Martine De Rycke và Veerle J Genes Berckmoes (2020), Preimplantation Genetic Testing for monogenic disorders, *Genes (Basel)*, 2020-11(8), p. 871.
16. R. M. Frederickson, H. S. Wang và L. C. Surh (1999), Some caveats in PCR-based prenatal diagnosis on direct amniotic fluid versus cultured amniocytes, *Prenat Diagn*. 19(2), pp. 113-7.
17. Sir David J. Weatherall, Williams (2010), The Thalassemias: Disorders of Globin Synthesis, *Hematology*, 8 edit, Chapter 47.
18. Thalassemia International Federation annual report (2013), A global public health paradigm, *Thalassemia Reports*, 4.

(Ngày nhận bài: 09/10/2021 – Ngày duyệt đăng: 20/11/2021)
