

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bhargava Shashank, Paulo, Cunha R, et al. Acne Scarring Management: Systematic Review and Evaluation of the Evidence. Springer International Publishing AG. 2018. doi: <https://doi.org/10.1007/s40257-018-0358-5>.
2. Micali Giuseppe, Lacarrubba Francesco, Tedeschi Aurora. Classification of Acne Scars: Clinical and Instrumental Evaluation. Acne scars classification and treatment. 2019. 2, 1-8. doi: <https://doi.org/10.1201/9781315179889>.
3. Nguyễn Văn Thường. Chăm sóc thương tổn da vùng mặt, Điều dưỡng trong chuyên ngành Da liễu. 2019. 100-104.
4. Xu Y., Deng Y. Ablative Fractional CO2 Laser for Facial Atrophic Acne Scars. Facial Plast Surg. 2018. 34, 205-219, doi: <https://doi.org/10.1055/s-0037-1606096>.
5. Micali Giuseppe, Lacarrubba Francesco, Tedeschi Aurora. Classification of Acne Scars: Clinical and Instrumental Evaluation. Acne scars classification and treatment. 2019. (2), 1-8.
6. Haggaga M. M. et al. Fractional CO2 laser versus fractional CO2 laser with subcision in management of atrophic postacne scar. *Menoufia Med J*. 2021. 34, 34-39. doi: 10.4103/mmj.mmj\_160\_19.
7. Huỳnh Văn Sang. Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng và kết quả điều trị sẹo rỗ bằng laser CO2 fractional tại Bệnh viện Trường Đại Học Y Dược Cần Thơ. Luận văn Chuyên khoa cấp II. Trường đại học Y Dược Cần Thơ. 2019.
8. Nguyễn Diệu Thuần, Nguyễn Hữu Sáu. Khảo sát một số đặc điểm lâm sàng và yếu tố liên quan của sẹo lõm trứng cá ở bệnh nhân đến khám tại bệnh viện Da liễu Trung ương. Da liễu học. 2018. (27), 47-54.
9. Saeed A. H. M., Alsaiani S. A. The efficacy of fractional CO2 laser resurfacing in the treatment of facial acne scars. Salaiman Ayed Alsaiani Department of Internal Medicine. Najran University. 2018, doi: 10.5455/ijmsph.2018.0412829042018.

## ĐẶC ĐIỂM KIỂU GEN VÀ KIỂU HÌNH HUYẾT HỌC BỆNH HEMOGLOBIN H KHÔNG MÁT ĐOẠN

*Lê Thị Hoàng Mỹ<sup>1\*</sup>, Võ Thành Trí<sup>2</sup>, Trần Thị Thùy Dung<sup>3</sup>, Nguyễn Thị Kiều Trang<sup>4</sup>*

*1. Trường Đại học Y Dược Cần Thơ*

*2. Bệnh viện Quốc tế Phương Châu*

*3. Trung tâm Y tế huyện Cai Lậy, Tiền Giang*

*4. Trung tâm Y tế huyện Bình Tân, Vĩnh Long*

*\*Email: lthmy@ctump.edu.vn*

*Ngày nhận bài: 04/01/2024*

*Ngày phản biện: 23/01/2024*

*Ngày duyệt đăng: 26/02/2024*

## TÓM TẮT

**Đặt vấn đề:** Sự kết hợp giữa các đột biến điểm với đột biến mất đoạn hai gen  $\alpha$ -globin gây bệnh Hemoglobin H (HbH) không mất đoạn. Việc xác định chính xác bệnh HbH không mất đoạn liên quan đến các kiểu hình có lâm sàng nặng là rất cần thiết vì những đột biến này đã xuất hiện

trong quần thể người Việt Nam. **Mục tiêu nghiên cứu:** Xác định kiểu gen và mô tả kiểu hình huyết học của bệnh Hemoglobin H không mất đoạn. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 38 bệnh nhân HbH không mất đoạn tại Bệnh viện Huyết Học-Truyền Máu Thành phố Cần Thơ và Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Cần Thơ từ tháng 12/2022 đến 08/2023.

**Kết quả:** Tuổi trung bình bệnh nhân HbH không mất đoạn là 32,26 tuổi, nữ chiếm 81,58% và nam chiếm 18,42%. Kiểu gen chiếm tỷ lệ cao nhất là ( $--^{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ ) với 63,16%, ( $--^{SEA}/\alpha^{c.2delT}\alpha$ ) chiếm 31,58% và ( $--^{SEA}/\alpha^{QS}\alpha$ ) chiếm 5,26%. **Kết luận:** Dựa vào hai kỹ thuật sinh học phân tử Gap-PCR và C-ARMS-PCR hơn 68% trường hợp bệnh HbH không mất đoạn đã xác định được kiểu gen. Các chỉ số: RBC, HGB, MCV, MCH giảm, RDW-CV tăng; thành phần HbA giảm, HbH và HbBart's tăng, xuất hiện HbC và HbE; tỷ lệ hồng cầu lưới và thể vùi HbH tăng ở bệnh nhân HbH không mất đoạn.

**Từ khóa:** Bệnh HbH,  $\alpha$ -globin, gap-PCR, C-ARMS-PCR.

## ABSTRACT

### GENOTYPES AND HEMATOLOGICAL PHENOTYPES ANALYSIS OF NON-DELETIONAL HEMOGLOBIN H DISEASE

Le Thi Hoang My<sup>1\*</sup>, Vo Thanh Tri<sup>2</sup>, Tran Thi Thuy Dung<sup>3</sup>, Nguyen Thi Kieu Trang<sup>4</sup>

1. Can Tho University of Medicine and Pharmacy

2. Phuong Chau International Hospital

3. Cai Lay District Medical Center, Tien Giang Province

4. Binh Tan District Medical Center, Vinh Long Province

**Background:** The interaction of the point mutations with the double  $\alpha$ -globin gene deletion results in non-deletional Hemoglobin H (HbH) disease. Accurate detection of non-deletional HbH disease, which is associated with severe clinical phenotypes, is necessary as these mutations have appeared in the Vietnamese population. **Objectives:** To determine the genotypes and describing hematological phenotypes of non-deletional HbH disease. **Materials and method:** This cross-sectional descriptive study was conducted in 38 non-deletional HbH disease patients at Can Tho city Hematology-Blood Transfusion Hospital and Can Tho University of Medicine and Pharmacy Hospital from 12/2022 to 08/2023. **Results:** The average age of non-deletional HbH disease patients is 32.26 years old, women account for 81.58% and men account for 18.42%. The most frequently observed non-deletional HbH disease patient genotypes were ( $--^{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ ) accounts for 63.16%, ( $--^{SEA}/\alpha^{c.2delT}\alpha$ ) accounts for 31.58% and ( $--^{SEA}/\alpha^{QS}\alpha$ ) accounts for 5.26%. **Conclusion:** Based on two molecular diagnostic tests Gap-PCR and C-ARMS-PCR, more than 68% of the non-deletional HbH cases were genetically characterised. Hematological indexes: RBC, HGB, MCV, MCH decreased, RDW-CV increased; HbA decreased, HbH and HbBart's increased, HbC and HbE appeared; the reticulocyte count and HbH inclusions increased in non-deletional HbH disease.

**Keywords:** HbH disease,  $\alpha$ -globin, Gap-PCR, C-ARMS-PCR.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh Hemoglobin H (HbH) là thể trung gian của  $\alpha$ -thalassemia, bệnh di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường được đặc trưng bởi sự giảm hoặc không tổng hợp được chuỗi  $\alpha$ -globin trong phân tử hemoglobin (Hb), dẫn đến giảm sự biểu hiện gen  $\alpha$ -globin. Bệnh HbH gây ra do sự kết hợp các đột biến của 03 trên 04 gen  $\alpha$ -globin. Mất ba gen  $\alpha$ -globin gây ra bệnh HbH thể mất đoạn ( $--/\alpha$ ), biểu hiện từ thiếu máu nhẹ đến trung bình. Sự kết hợp giữa đột biến điểm và đột biến mất đoạn hai gen  $\alpha$ -globin dẫn đến bệnh HbH không mất đoạn ( $--/\alpha^T\alpha$ ). Đây là một rối loạn có kiểu hình lâm sàng nặng hơn HbH mất đoạn. Bệnh nhân mắc bệnh HbH không mất đoạn có nhiều khả năng bị lách to và cần truyền máu [1].

Hiện nay có hơn 30 biến thể cấu trúc  $\alpha$ -globin đã được liệt kê trong cơ sở dữ liệu đột biến gen globin ở người. Hemoglobin Constant Spring (HbCS) là đột biến điểm liên

quan đến sự thay thế cặp base TAA→CAA trong codon kết thúc của gen  $\alpha 2$ -globin (*HBA2:c.427T>C*). Sản phẩm cuối cùng là chuỗi  $\alpha$ -globin kéo dài có thêm 31 gốc axit amin. HbCS là biến thể cấu trúc  $\alpha$ -globin phổ biến nhất ở Việt Nam và các nước Đông Nam Á khác [1],[2]. Hemoglobin Quang Sze (HbQS) là một đột biến điểm gen  $\alpha$ -globin khác của  $\alpha^+$ -thalassemia. HbQS là kết quả đột biến ở gen  $\alpha 2$ -globin trong đó axit amin leucine được thay thế bằng proline (CTG→CCG, codon 125). HbQS (*HBA2:c.377T>C*) là một biến thể hemoglobin hiếm gặp và có tính không ổn định cao được báo cáo ở người dân Trung Quốc, Thái Lan và Việt Nam [2],[3]. Cả hai thể bệnh HbH mất đoạn (--/ $\alpha$ ) và không mất đoạn (-/ $\alpha^T\alpha$ ) đều được quan sát thấy ở các nhóm dân tộc khác nhau ở Việt Nam [2],[4].

Nghiên cứu về đặc điểm kiểu gen và kiểu hình của bệnh HbH đóng vai trò quan trọng trong việc tiên lượng mức độ nặng của bệnh để đưa ra các quyết định điều trị, theo dõi phù hợp. Đây cũng là cơ sở thiết yếu cho tư vấn tiền hôn nhân, tư vấn di truyền cho người mang gen bệnh, chẩn đoán trước sinh bệnh  $\alpha$ -thalassemia nói chung cũng như bệnh HbH nói riêng. Xuất phát từ những lý do trên nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu: Xác định kiểu gen và mô tả kiểu hình huyết học của bệnh HbH không mất đoạn.

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Bệnh nhân HbH không mất đoạn đến khám hoặc điều trị tại Bệnh viện Huyết Học-Truyền Máu Cần Thơ, Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Cần Thơ.

- **Tiêu chuẩn chọn mẫu:** Bệnh nhân chẩn đoán bệnh HbH không mất đoạn dựa trên kết quả phân tích thành phần hemoglobin có xuất hiện HbH và/hoặc HbBart's và chỉ có một đột biến mất đoạn hai gen  $\alpha$ -globin khi sàng lọc bằng kỹ thuật Gap-PCR.

- **Tiêu chuẩn loại trừ:** Bệnh nhân HbH mắc phải trong bệnh cảnh loạn sản tủy, bệnh nhân HbH có kèm nguyên nhân gây thiếu máu khác (ngoài thalassemia).

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

- **Thiết kế nghiên cứu:** Mô tả cắt ngang.

- **Thời gian nghiên cứu:** Từ 12/2022 đến tháng 08/2023.

- **Cỡ mẫu:** 38 mẫu.

- **Phương pháp chọn mẫu:** Chọn mẫu thuận tiện thỏa tiêu chuẩn chọn và loại trừ.

- **Nội dung nghiên cứu:**

+ Xác định kiểu gen bệnh HbH không mất đoạn: Khảo sát đột biến mất đoạn hai gen  $\alpha$ -globin --<sup>SEA</sup>, --<sup>THAI</sup> bằng kỹ thuật Gap-PCR; đột biến điểm  $\alpha^{CS}$  và  $\alpha^{QS}$  bằng kỹ thuật C-ARMS-PCR và giải trình tự gen *HBA2* bằng phương pháp Sanger.

+ Mô tả kiểu hình huyết học bệnh HbH không mất đoạn: Thông qua RBC( $10^{12}/L$ ), HbG(g/dL), MCV(fL), MCH(pg), RDW-CV(%), HbA(%), HbA2(%), HbF(%), HbH(%), HbBart's(%), HbE(%), Hb khác (%), tỷ lệ hồng cầu lưới (%) và tỷ lệ thể vùi HbH(%).

- **Phương pháp thu thập và xử lý số liệu:** Mẫu DNA của 38 bệnh nhân nghiên cứu được khảo sát đột biến mất đoạn hai gen  $\alpha$ -globin --<sup>SEA</sup> và --<sup>THAI</sup> bằng kỹ thuật Gap-PCR; đột biến điểm  $\alpha^{CS}$  và  $\alpha^{QS}$  bằng kỹ thuật C-ARMS-PCR và giải trình tự gen *HBA2* bằng phương pháp Sanger. Trình tự thực hiện gồm:

+ Ly trích DNA: DNA bệnh nhân được ly trích từ máu toàn phần sử dụng bộ ly trích TopPURE<sup>®</sup> Blood DNA extraction kit (ABT, Việt Nam). Nồng độ và độ tinh sạch DNA được xác định bằng thiết bị đo quang phổ kế BioDrop uLite (Anh).

+ Kỹ thuật Gap-PCR: Mỗi 50µL phản ứng chứa 100-200ng DNA, 8 đoạn mồi (Bảng 1), 200µM dNTP mỗi loại, 1,5mM MgCl<sub>2</sub>, 1X Q-solution và 2,5 đơn vị HotStarTaq DNA polymerase trong dung dịch đệm phản ứng (Qiagen, Đức). Giai đoạn biến tính trong 15 phút ở 95°C, sau đó là 35 chu kỳ biến tính ở 98°C trong 45 giây, bắt cặp ở 60°C trong 90 giây và kéo dài ở 72°C trong 150 giây sử dụng thiết bị luân nhiệt C1000 (Bio-rad Laboratories, Mỹ). Phản ứng hoàn thành sau 5 phút kéo dài ở 72°C.

Bảng 1. Trình tự mồi và kích thước các sản phẩm của kỹ thuật Gap-PCR [4].

Mồi Gap-PCR	Trình tự mồi (5' → 3')	Kích thước
LIS1-F	GTCGTCACTGGCAGCGTAGATC	2503bp
LIS1-R	GATTCCAGGTTGTAGACGGACTG	
α2-F	CCCCTCGCCAAGTCCACCC	1800bp
α2-R	AGACCAGGAAGGGCCGGTG	
SEA-F	CGATCTGGGCTCTGTGTTCTC	1349bp
SEA-R	AGCCACGTTGTGTTTCATGGC	
THAI-F	GGCACTGAGAGCCCTTCACG	1024bp
THAI-R	CAAGTGGGCTGAGCCCTTGAG	

- Kỹ thuật C-ARMS-PCR: Một mẫu DNA có hai giếng phản ứng.

+ Giếng M (đột biến): Mỗi 50µL phản ứng chứa 100-200ng DNA, 5 đoạn mồi CS-1, CS-M, QS-M, 11E và 11F (Bảng 2), 1X hỗn hợp MyTaq™ HS Mix (Bioline, Mỹ), 0,5X Q-solution (Qiagen, Đức).

+ Giếng N (không đột biến): Mỗi 50µL phản ứng chứa 100-200ng DNA, 5 đoạn mồi CS-1, CS-N, QS-N, 11E và 11F (Bảng 2), 1X hỗn hợp MyTaq™ HS Mix (Bioline, Mỹ), 0,5X Q-solution (Qiagen, Đức).

+ Giai đoạn biến tính trong 5 phút ở 95°C, sau đó là 34 chu kỳ biến tính ở 95°C trong 60 giây, bắt cặp ở 66°C trong 60 giây và kéo dài ở 72°C trong 150 giây sử dụng thiết bị luân nhiệt C1000 (Bio-rad Laboratories, Mỹ). Phản ứng hoàn thành sau 5 phút kéo dài ở 72°C.

Bảng 2. Trình tự mồi và kích thước sản phẩm của kỹ thuật C-ARMS-PCR [2].

Mồi C-ARMS-PCR	Trình tự mồi (5' → 3')	Kích thước
CS-1	CCTGGGCCGCACTGACCCTATT	183bp
CS-M	AGGAGGAACGGCTACCGAGGCTCCAGATTG	
QS-M	CGGTGCTCACAGAAGCCAGGAACTTGGCCG	138bp
CS-N	AGGAGGAACGGCTACCGAGGCTCCAGATTA	183bp
QS-N	CGGTGCTCACAGAAGCCAGGAACTTGGCCA	138bp
11E	AGTGCTGCAAGAACAACACTACC	323bp
11F	CTCTGCATCATGGGCAGTGAGCTC	

- Điện di gel agarose: 5µL sản phẩm PCR điện di trong dung dịch TAE ở điện thế 90V, cường độ 120mA trên gel agarose 1,5% trong 50-60 phút đối với sản phẩm Gap-PCR và gel agarose 3% trong 30-40 phút đối với sản phẩm C-ARMS-PCR.

- Kỹ thuật giải trình tự gen *HBA2* bằng phương pháp Sanger:

+ DNA sau khi ly trích sẽ được khuếch đại gen *HBA2* với các đoạn mồi đặc hiệu (Bảng 3), điện di gel agarose 1,5% đọc kết quả. Sản phẩm sau khi điện di sẽ được tinh sạch và thực hiện phản ứng PCR giải trình tự với đoạn mồi đặc hiệu (Bảng 3).

+ Các mẫu giải trình tự gen được phân tích trên máy ABI 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystem), dùng phần mềm Chromas để xem kết quả và sử dụng công cụ Blast/NCBI so sánh kết quả với trình tự chuẩn trên ngân hàng gen để xác định các đột biến.

Bảng 3. Trình tự mồi và kích thước sản phẩm PCR và giải trình tự gen *HBA2* [2].

Kỹ thuật	Mồi	Trình tự mồi (5' → 3')	Kích thước
PCR gen HBA2	HBA2-a2R	AGACCAGGAAGGGCCGGTG	895bp
	HBA2-F	GGGCTCCGCGCCAGCCAATG	
Giải trình tự gen HBA2	HBA2-in2R	GTGATCCTCTGCCCTGAGAG	-
	aG17 (F)	AGATGGCGCCTTCTCTCAGG	

Các số liệu sau khi thu thập được mã hóa và xử lý bằng phần mềm SPSS 20.0.

### III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

#### 3.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Bảng 4. Đặc điểm về tuổi của đối tượng nghiên cứu

Đặc điểm	Trung bình ± Độ lệch chuẩn	Giá trị nhỏ nhất	Giá trị lớn nhất
Tuổi	32,26 ± 19,10	5	74

Nhận xét: Tuổi trung bình của đối tượng nghiên cứu là 32,26 tuổi, lớn nhất là 74 tuổi và nhỏ nhất là 5 tuổi.

Bảng 5. Đặc điểm về giới tính của đối tượng nghiên cứu

Giới tính	Tần số (n)	Tỷ lệ (%)
Nam	07	18,42
Nữ	31	81,58
Tổng	38	100

Nhận xét: Nữ chiếm tỷ lệ 81,58% cao hơn so với nam giới là 18,42%.

#### 3.2. Kiểu gen bệnh HbH không mất đoạn

Bảng 6. Kiểu gen bệnh HbH không mất đoạn

Bệnh HbH	Kiểu gen	Tần số (n)	Tỷ lệ (%)
Thẻ không mất đoạn (-- <sub>SEA/α<sup>T</sup>α</sub> )	(-- <sub>SEA/α<sup>CS</sup>α</sub> )	24	63,16
	(-- <sub>SEA/α<sup>QS</sup>α</sub> )	2	5,26
	(-- <sub>SEA/α<sup>c.2delT</sup>α</sub> )	12	31,58
Tổng		38	100

Nhận xét: Kiểu gen (--<sub>SEA/α<sup>CS</sup>α</sub>) chiếm tỷ lệ cao nhất với 63,16%, tiếp theo là kiểu gen (--<sub>SEA/α<sup>c.2delT</sup>α</sub>) với 31,58% và kiểu gen (--<sub>SEA/α<sup>QS</sup>α</sub>) với 5,26%.

#### 3.3. Kiểu hình huyết học của bệnh HbH không mất đoạn

Bảng 7. Đặc điểm huyết học bệnh HbH không mất đoạn

Đặc điểm	Trung bình ± Độ lệch chuẩn			p
	(-- <sub>SEA/α<sup>CS</sup>α</sub> )	(-- <sub>SEA/α<sup>QS</sup>α</sub> )	(-- <sub>SEA/α<sup>c.2delT</sup>α</sub> )	
RBC (x10 <sup>12</sup> /L)	3,64 ± 0,58	3,42 ± 0,09	3,66 ± 0,74	0,871
HGB (g/dL)	71,46 ± 8,12	80,50 ± 2,12	75,0 ± 12,38	0,317
MCV (fL)	75,19 ± 8,21	84,80 ± 0,84	78,26 ± 5,65	0,106
MCH (pg)	19,84 ± 2,20	23,55 ± 0,07	20,67 ± 2,11	0,061
RDW-CV (%)	25,25 ± 3,77	19,95 ± 1,91	23,28 ± 1,86	0,045
HbA (%)	82,03 ± 4,77	65,70 ± 2,82	76,77 ± 10,01	0,003
HbA2 (%)	1,54 ± 1,06	0,45 ± 0,07	1,0 ± 0,66	0,018
HbF (%)	0,76 ± 1,54	-	0,03 ± 0,09	0,153
HbH (%)	9,05 ± 6,48	31,25 ± 1,77	20,99 ± 10,12	0,002
HbBart's (%)	1,94 ± 1,39	2,60 ± 1,13	1,10 ± 0,98	0,066
HbE (%)	2,51 ± 4,58	-	0,07 ± 0,23	0,223

Đặc điểm	Trung bình ± Độ lệch chuẩn			p
	( $--_{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ )	( $--_{SEA}/\alpha^{QS}\alpha$ )	( $--_{SEA}/\alpha^{c.2delT}\alpha$ )	
HbC (%)	1,98 ± 0,93	-	-	-
Tỷ lệ hồng cầu lưới (%)	6,55 ± 1,99	8,10 ± 0,70	6,98 ± 2,66	0,590
Tỷ lệ thể vùi HbH (%)	28,33 ± 10,72	45,0 ± 7,07	33,91 ± 8,63	0,060

RBC: số lượng hồng cầu, HGB: nồng độ huyết sắc tố, MCV: thể tích trung bình hồng cầu, MCH: lượng huyết sắc tố trung bình của hồng cầu, RDW-CV: dải phân bố kích thước hồng cầu, Hb: thành phần huyết sắc tố, -: không giá trị.

Nhận xét: Các chỉ số hồng cầu RBC, HGB, MCV, MCH đều giảm, RDW-CV tăng; thành phần HbA giảm rõ rệt trong khi HbH và HbBart's tăng, xuất hiện HbC và HbE; tỷ lệ hồng cầu lưới và thể vùi HbH tăng cao ở tất cả các kiểu gen.

## IV. BÀN LUẬN

### 4.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Tuổi trung bình của bệnh nhân HbH không mất đoạn là 32,26 tuổi, tương đồng với nghiên cứu của Su J Y tại Trung Quốc với tuổi trung bình ở bệnh nhân HbH là 30,07 [5]. Nghiên cứu của Luo S ở Trung Quốc có tuổi trung bình là 28,6 thấp hơn so với chúng tôi [6], điều này có thể do sự khác biệt về cỡ mẫu và quần thể nghiên cứu. Nghiên cứu ghi nhận sự chênh lệch về tỷ lệ giới tính, tỷ lệ nữ giới là 81,58% cao hơn so với nam giới là 18,42%. Theo nghiên cứu của Ngô Diễm Ngọc năm 2018, tỷ lệ nữ giới chiếm 47,4% và nam giới chiếm 52,5% và theo nghiên cứu của Traivaree C năm 2018 tại Thái Lan tỷ lệ nam, nữ lần lượt là 53,4% và 46,6% [2],[7]. Kết quả nghiên cứu có sự khác biệt so với nghiên cứu của các tác giả trên. Tuy nhiên, bệnh HbH di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường vì vậy giới tính không ảnh hưởng đến việc di truyền bệnh. Nghiên cứu ghi nhận một số bệnh nhân nữ phát hiện mắc bệnh trong thai kỳ bị thiếu máu nặng phải nhập viện truyền máu, một số trường hợp phát hiện mắc HbH qua sàng lọc khi khám thai định kỳ. Điều này có thể lý giải cho tỷ lệ nữ cao hơn nam trong nghiên cứu.

### 4.2. Kiểu gen bệnh HbH không mất đoạn

Nghiên cứu xác định một số kiểu gen của bệnh HbH không mất đoạn gồm kiểu gen ( $--_{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ ) chiếm tỷ lệ cao nhất với 63,16%, tiếp theo là kiểu gen ( $--_{SEA}/\alpha^{c.2delT}\alpha$ ) với 31,58% và kiểu gen ( $--_{SEA}/\alpha^{QS}\alpha$ ) với 5,26%. Nghiên cứu của Su J Y tại Trung Quốc có kiểu gen ( $--_{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ ) chiếm 60%, kiểu gen ( $--_{SEA}/\alpha^{QS}\alpha$ ) chiếm 6,7% nhóm bệnh HbH không mất đoạn, tương đồng với chúng tôi [5]. Nghiên cứu của Ngô Diễm Ngọc ghi nhận kiểu gen ( $--_{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ ) chiếm 80,3%, ( $--_{SEA}/\alpha^{QS}\alpha$ ) chiếm 6,1% và ( $--_{SEA}/\alpha^{c.2delT}\alpha$ ) chiếm 9,1% nhóm HbH không mất đoạn [2]. Theo tác giả Ngô Diễm Ngọc, bệnh nhân HbH ( $--_{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ ) có biểu hiện lâm sàng nặng hơn và tỷ lệ bệnh nhân phụ thuộc truyền máu cao [2]. Vì vậy, tỷ lệ kiểu gen ( $--_{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ ) ở bệnh nhi trong nghiên cứu của Ngô Diễm Ngọc cao hơn nghiên cứu của chúng tôi [2]. Điều này cho thấy  $\alpha^{CS}$  và  $\alpha^{c.2delT}$  là hai đột biến điểm gây bệnh HbH không mất đoạn phổ biến tại Việt Nam, cần lưu ý đến sàng lọc các đột biến điểm này để tránh bỏ sót các thể mang gen di truyền từ bố mẹ mắc bệnh.

### 4.3. Kiểu hình huyết học bệnh HbH không mất đoạn

Kiểu gen ( $--_{SEA}/\alpha^{QS}\alpha$ ), ( $--_{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ ), ( $--_{SEA}/\alpha^{c.2delT}\alpha$ ) có RBC giảm rõ rệt với giá trị lần lượt là:  $3,42 \pm 0,09 \times 10^{12}/L$ ,  $3,64 \pm 0,58 \times 10^{12}/L$ ,  $3,66 \pm 0,74 \times 10^{12}/L$  và sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ . Theo nghiên cứu của tác giả Ngô Diễm Ngọc và Lou S ghi nhận ( $--_{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ ), ( $--_{SEA}/\alpha^{QS}\alpha$ ), ( $--_{SEA}/\alpha^{c.2delT}\alpha$ ) có RBC giảm rõ rệt [2], [6]. Nồng độ HGB ở tất

cả các kiểu gen đều giảm, thấp nhất là ( $--^{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ ) với  $71,46\pm 8,12\text{g/dL}$ , kế đến là ( $--^{SEA}/\alpha^{c.2delT}\alpha$ ) với  $75,0\pm 12,38\text{g/dL}$  và ( $--^{SEA}/\alpha^{QS}\alpha$ ) với  $80,50\pm 2,12\text{g/dL}$ . Các kiểu gen đều có tình trạng thiếu máu từ trung bình đến nặng. Tác giả Ngô Diễm Ngọc cũng ghi nhận nồng độ HGB của các kiểu gen giảm theo thứ tự: ( $--^{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ ) < ( $--^{SEA}/\alpha^{c.2delT}\alpha$ ) < ( $--^{SEA}/\alpha^{QS}\alpha$ ) với các giá trị lần lượt là:  $75,4\pm 14,5\text{g/dL}$ ;  $84,0\pm 18,3\text{g/dL}$ ;  $84,9\pm 12,0\text{g/dL}$  [2]. MCV là chỉ số hiệu quả để phân loại thiếu máu dựa trên hình thái tế bào hồng cầu. MCV trung bình của tất cả các kiểu gen đều giảm, ( $--^{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ ) có MCV thấp nhất với  $75,19\pm 8,21\text{fL}$ ; ( $--^{SEA}/\alpha^{c.2delT}\alpha$ ) với  $78,26\pm 5,65\text{fL}$  và cao nhất là ( $--^{SEA}/\alpha^{QS}\alpha$ ) với  $84,80\pm 0,84\text{fL}$ ; sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với  $p>0,05$ . Tác giả Lou S ghi nhận các kiểu gen ( $--^{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ ) có MCV trung bình là  $76,4\pm 9,2\text{fL}$  tương đồng với kết quả nghiên cứu [6]. MCH giảm ở tất cả kiểu gen, trong đó ( $--^{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ ) giảm thấp với  $19,84\pm 2,20\text{pg}$ , kế đến là ( $--^{SEA}/\alpha^{c.2delT}\alpha$ ) với  $20,67\pm 2,11\text{pg}$ , giảm ít nhất là ( $--^{SEA}/\alpha^{QS}\alpha$ ) với  $23,55\pm 0,07\text{pg}$ , sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với  $p>0,05$ . RDW-CV tăng cao thể hiện sự chênh lệch kích thước hồng cầu trong cơ thể, tất cả đối tượng nghiên cứu có RDW-CV tăng cao, phù hợp với tình trạng thiếu máu tán huyết ở bệnh cảnh HbH. Kiểu gen có RDW-CV tăng cao nhất là ( $--^{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ ) với  $25,25\pm 3,77\%$ ; tiếp theo là ( $--^{SEA}/\alpha^{c.2delT}\alpha$ ) với  $23,28\pm 1,86\%$  và ( $--^{SEA}/\alpha^{QS}\alpha$ ) với  $19,95\pm 1,91\%$ ; sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p<0,05$ . Kết quả này tương đồng với các nghiên cứu tại Việt Nam và trong khu vực [2],[6].

Thành phần HbA ở tất cả các kiểu gen đều giảm, thấp nhất là ( $--^{SEA}/\alpha^{QS}\alpha$ ) với tỷ lệ là  $65,70\pm 2,82\%$ , tiếp theo là ( $--^{SEA}/\alpha^{c.2delT}\alpha$ ) với  $76,77\pm 10,01\%$  và ( $--^{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ ) với  $82,03\pm 4,77\%$ , sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p<0,05$ . Kiểu gen có tỷ lệ HbA2 thấp nhất là ( $--^{SEA}/\alpha^{QS}\alpha$ ) với  $0,45\pm 0,07\%$ , tiếp theo là ( $--^{SEA}/\alpha^{c.2delT}\alpha$ ) với  $1,00\pm 0,66\%$  và kiểu gen ( $--^{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ ) với HbA2 là  $1,54\pm 1,06\%$  và một vài trường hợp có tăng nhẹ HbA2, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p<0,05$ . Thành phần HbH hiện diện ở hầu hết bệnh nhân HbH và là tiêu chuẩn quan trọng chẩn đoán bệnh HbH. Nghiên cứu ghi nhận thành phần HbH giảm dần theo thứ tự ( $--^{SEA}/\alpha^{QS}\alpha$ ) > ( $--^{SEA}/\alpha^{c.2delT}\alpha$ ) > ( $--^{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ ) với tỷ lệ lần lượt là  $31,25\pm 1,77\%$ ,  $20,99\pm 10,12\%$ ,  $9,05\pm 6,48\%$  sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p<0,05$ . Tác giả Ngô Diễm Ngọc ghi nhận tỷ lệ HbH ở kiểu gen ( $--^{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ ) là  $10,7\pm 4,2\%$  [2]. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của chúng tôi. Thành phần HbF hiện diện ở một vài bệnh nhân ( $--^{SEA}/\alpha^{c.2delT}\alpha$ ) với giá trị bình thường và tăng ở một số trường hợp có kiểu gen ( $--^{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ ). Thành phần HbE xuất hiện ở một số bệnh nhân ( $--^{SEA}/\alpha^{c.2delT}\alpha$ ) và ( $--^{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ ). Thành phần HbC chỉ xuất hiện ở kiểu gen ( $--^{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ ) với tỷ lệ  $1,98\pm 0,93\%$ . HbC thường lưu hành trên chủng tộc người châu Phi hoặc người Mỹ gốc Phi do đột biến ở vị trí số 6 của chuỗi  $\beta$ -globin biến đổi glutamic thành lysin gây nên. Tuy nhiên khi điện di Hb, một số loại Hb khác cũng có thể xuất hiện trên cùng vị trí đỉnh Z(C) của HbC, đáng lưu ý nhất là HbCS (Hb Contant Spring). Nghiên cứu ghi nhận tất cả trường hợp điện di có HbC đều mang đột biến  $\alpha^{CS}$  khi khảo sát đột biến gen  $\alpha$ -globin. Khi đột biến  $\alpha^{CS}$  kết hợp với đột biến mất đoạn hai gen  $--^{SEA}$  sẽ gây ra bệnh HbH-Contant Spring với kiểu gen ( $--^{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ ) gây nên tình trạng thiếu máu tan máu phức tạp với các biểu hiện lâm sàng rất khác nhau [1],[2],[5]. Chúng tôi khuyến nghị rằng nếu xuất hiện đỉnh Z(C) khi điện di Hb, phòng xét nghiệm chỉ nên ghi nhận kết quả không nên kết luận loại Hb.

Tỷ lệ hồng cầu lưới tăng ở tất cả các kiểu gen, đáp ứng tình trạng thiếu máu và sự tăng sản sinh hồng cầu ở tủy xương của bệnh nhân HbH. Các kiểu gen có tỷ lệ hồng cầu lưới tăng theo thứ tự ( $--^{SEA}/\alpha^{QS}\alpha$ ) > ( $--^{SEA}/\alpha^{c.2delT}\alpha$ ) > ( $--^{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ ), sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với  $p>0,05$ . Kiểu gen ( $--^{SEA}/\alpha^{QS}\alpha$ ) có tỷ lệ hồng cầu lưới cao nhất với  $8,10\pm 0,70\%$ ; tiếp theo là ( $--^{SEA}/\alpha^{c.2delT}\alpha$ ) với  $6,98\pm 2,66\%$  và ( $--^{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ ) với  $6,55\pm 1,99\%$ .

Thể vùi HbH là đặc điểm quan trọng của bệnh lý HbH khi khảo sát tế bào hồng cầu trên tiêu bản nhuộm xanh sáng cresyl. Nghiên cứu ghi nhận kiểu gen ( $--^{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ ) có tỷ lệ thể vùi HbH là  $28,33\pm 10,72\%$  thấp hơn kiểu gen ( $--^{SEA}/\alpha^{c.2delT}\alpha$ ) với  $33,91\pm 8,63\%$  (20-45%) và cao nhất là ( $--^{SEA}/\alpha^{QS}\alpha$ ) với  $45,0\pm 7,07\%$  sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với  $p>0,05$ . Tỷ lệ hồng cầu lưới và thể vùi HbH tăng cao tương đồng với nghiên cứu khác [4],[8].

## V. KẾT LUẬN

Dựa vào hai kỹ thuật sinh học phân tử Gap-PCR và C-ARMS-PCR hơn 68% trường hợp bệnh HbH không mất đoạn đã xác định được kiểu gen với ( $--^{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ ) chiếm 63,16%, ( $--^{SEA}/\alpha^{QS}\alpha$ ) chiếm 5,26% và ( $--^{SEA}/\alpha^{c.2delT}\alpha$ ) chiếm 31,58% được xác định bằng giải trình tự Sanger. Các chỉ số: RBC, HGB, MCV, MCH giảm, RDW-CV tăng; thành phần HbA giảm, HbH và HbBart's tăng, xuất hiện HbC và HbE; tỷ lệ hồng cầu lưới và thể vùi HbH tăng cao ở bệnh HbH không mất đoạn.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ang S.H., Yee X.J., Pedro M., Tan G.P. Hemoglobin H disease and outcomes in Singapore. *Ann Acad Med Singap.* 2022. 51(4), 244-246, doi: 10.47102/annals-acadmedsg.2021415.
2. Ngô Diễm Ngọc. Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, kiểu gen của người mắc bệnh HbH và chẩn đoán trước sinh bệnh  $\alpha$ -thalassemia. Luận án Tiến sĩ. Trường Đại học Y Hà Nội, 2018.18-66.
3. Jomoui W., Tepakhan W., Satthakarn S., Panyasai S. Molecular spectrum of Hb H disease and characterization of rare deletional alpha-thalassemia found in Thailand. *Scand J Clin Lab Invest.* 2020. 80(7), 528-535, doi: 10.1080/00365513.2020.1795921.
4. Lê Thị Hoàng Mỹ, Võ Thành Trí. Ứng dụng kỹ thuật Gap-PCR phát hiện đột biến mất đoạn gen alpha-globin gây bệnh hemoglobin H. *Tạp chí Y Dược học Cần Thơ.* 2023. 57, 94-101, doi: 10.58490/ctump.2023i57.421.
5. Su J.Y., Chen Y., Chen H.F., Tong J.R., Wei Y.N., et al. Analysis of the anemia characteristics in early pregnancy and outcomes of pregnant women with hemoglobin H disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2023. 27(3), 1027-1032, doi: 10.26355/eurrev\_202302\_31198.
6. Luo S., Chen X., Chen L., Zhong Q., Wang Q., et al. Analysis of Hb levels and degree of anemia in relation to genotype in 615 patients with hemoglobin H disease. *Expert Rev Hematol.* 2020. 13(9), 1027-1033, doi: 10.1080/17474086.2020.1803736.
7. Traivaree C., Boonyawat B., Monsereenusorn C., Rujkijyanont .P., Photia A. Clinical and molecular genetic features of Hb H and AE Bart's diseases in central Thai children. *Appl Clin Genet.* 2018. 11, 23-30, doi: 10.2147/TACG.S161152.
8. Võ Thành Trí. Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật Gap-PCR phát hiện đột biến mất đoạn gen alpha-globin và mối liên quan giữa kiểu gen và kiểu hình huyết học các thể bệnh alpha-thalassemia. Luận văn Thạc sĩ. Trường Đại học Y Dược Cần Thơ, 2022, 38-52.