

## ỨNG DỤNG KỸ THUẬT GAP-PCR PHÁT HIỆN ĐỘT BIẾN MẤT ĐOẠN GEN ALPHA-GLOBIN GÂY BỆNH HEMOGLOBIN H

Lê Thị Hoàng Mỹ\*, Võ Thành Trí

Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

\*Email: lthmy@ctump.edu.vn

### TÓM TẮT

**Đặt vấn đề:** Bệnh Hemoglobin H (HbH) là thể trung bình của  $\alpha$ -thalassemia do sự thiếu hụt hoặc giảm tổng hợp chuỗi  $\alpha$ -globin trong phân tử hemoglobin. Bệnh HbH tồn tại một dạng huyết sắc tố gọi là huyết sắc tố H là kết quả của sự tổn thương ba gen  $\alpha$ -globin. Trong bài báo này, chúng tôi báo cáo sự hiện diện của một số loại đột biến mất đoạn  $\alpha$ -globin phổ biến gây bệnh HbH. **Mục tiêu nghiên cứu:** Xác định tỷ lệ một số loại đột biến mất đoạn gen  $\alpha$ -globin và kiểu gen của bệnh HbH bằng kỹ thuật Gap-polymerase chain reaction (Gap-PCR). **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 48 bệnh nhân HbH. DNA được ly trích từ máu toàn phần chống đông máu EDTA và khảo sát một số loại đột biến mất đoạn gen  $\alpha$ -globin phổ biến bằng kỹ thuật Gap-PCR. **Kết quả:** Đột biến mất đoạn gen  $\alpha$ -globin phổ biến nhất là đột biến --<sup>SEA</sup> chiếm tỷ lệ 75,0%, tiếp theo là đột biến - $\alpha$ <sup>3.7</sup> chiếm tỷ lệ 17,2% và đột biến - $\alpha$ <sup>4.2</sup> chiếm tỷ lệ 7,8% số alen đột biến, chưa ghi nhận trường hợp nào mang đột biến --<sup>THAI</sup>. **Kết luận:** Gap-PCR là kỹ thuật sinh học phân tử hiệu quả trong sàng lọc các loại đột biến mất đoạn gen  $\alpha$ -globin gây bệnh HbH.

**Từ khóa:** Gap-PCR, bệnh HbH,  $\alpha$ -globin,  $\alpha$ -thalassemia, bệnh di truyền.

## ABSTRACT

**APPLICATION OF GAP-PCR FOR DETECTING DELETION  
OF ALPHA-GLOBIN GENE MUTATIONS  
CAUSING HEMOGLOBIN H DISEASE**

*Le Thi Hoang My\*, Vo Thanh Tri*

*Can Tho University of Medicine and Pharmacy*

**Background:** Hemoglobin H (HbH) disease is a type of  $\alpha$ -thalassemia brought on by a shortage in the generation of hemoglobin globin chain. The patients produce a form of hemoglobin called hemoglobin H by inactivation of three  $\alpha$ -globin genes. In this paper, we reported the presence of the four deletion mutations causing HbH disease. **Objectives:** To determine allele frequency of  $\alpha$ -globin gene deletion mutations and genotypes of HbH disease by using Gap-polymerase chain reaction (Gap-PCR). **Materials and methods:** This cross-sectional descriptive study was conducted in 48 HbH disease patients. DNA was extracted from EDTA-anticoagulated whole blood and screened for common  $\alpha$ -globin deletion mutations using Gap-PCR. **Results:** The most common type of deletion was --<sup>SEA</sup> deletion, accounting for 75.0% of the mutant alleles, followed by the - $\alpha$ <sup>3.7</sup> deletion with 17.2% of the mutant alleles and - $\alpha$ <sup>4.2</sup> deletion with 7.8% of the mutant alleles. In this study, the --<sup>THAI</sup> mutation was not detected. **Conclusions:** Gap-PCR is a good initial screening test for detecting common  $\alpha$ -globin deletion mutations causing HbH disease.

**Keywords:** Gap-PCR, HbH disease,  $\alpha$ -globin,  $\alpha$ -thalassemia, genetic diseases.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Alpha-thalassemia là bệnh di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường, đặc trưng bởi sự suy giảm hoặc thiếu hụt tổng hợp chuỗi  $\alpha$ -globin trong phân tử hemoglobin. Bệnh thuộc nhóm bệnh di truyền phổ biến nhất trên thế giới, là nguyên nhân gây tan máu hàng đầu ở trẻ em [8]. Alpha-thalassemia xuất hiện ở tất cả các chủng tộc trên thế giới, đặc biệt ở khu vực nhiệt đới trong đó có khu vực Đông Nam Á. Hiện nay, có khoảng 5% dân số thế giới là người mang gen  $\alpha$ -thalassemia, phân bố khác nhau ở từng quốc gia, chủng tộc. Tại Trung Quốc, người mang gen  $\alpha$ -thalassemia chiếm 5-15% dân số, Hồng Kông 4%, Thái Lan 15-30%, Lào 43%, Việt Nam 5% [2].

Người bình thường có hai gen  $\alpha$ -globin nằm trên mỗi nhiễm sắc thể 16 và có tổng số bốn gen  $\alpha$ -globin trên hai nhiễm sắc thể 16 tương đồng ( $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ ). Alpha-thalassemia được chia thành bốn thể khác nhau tùy theo số lượng gen  $\alpha$ -globin đột biến với các biểu hiện lâm sàng rất phong phú và khác nhau ở mỗi thể bệnh [6]. Alpha-thalassemia thể ẩn do mất một gen  $\alpha$ -globin, có biểu hiện lâm sàng và huyết học bình thường. Alpha-thalassemia thể nhẹ do mất hai gen  $\alpha$ -globin, thường không có biểu hiện lâm sàng, chỉ được phát hiện qua xét nghiệm công thức máu với biểu hiện thiếu máu nhẹ hồng cầu nhỏ nhược sắc. Bệnh Hemoglobin H (HbH) do mất ba gen  $\alpha$ -globin, có biểu hiện lâm sàng thiếu máu từ vừa đến nặng, hồng cầu nhỏ nhược sắc, tan máu, vàng da và gan lách to. Hội chứng phù thai Hemoglobin Bart's là thể bệnh nặng nhất do mất hoàn toàn bốn gen  $\alpha$ -globin gây thiếu máu nặng, phù thai, chết ngay từ thời kỳ phôi thai hoặc ngay sau sinh [6].

Trẻ mắc bệnh HbH thường có thiếu máu tan máu, có thể phải phụ thuộc truyền máu, gây hậu quả nghiêm trọng cho hàng loạt các cơ quan trong cơ thể. Nếu không được chẩn đoán và điều trị, trẻ mắc HbH thường tử vong sớm hoặc muộn hơn vì các biến chứng của bệnh [6]. Từ năm 2008 đến 2010, phân tích gen  $\alpha$ -globin bắt đầu được tiến hành tại Việt Nam. Việc nghiên cứu một cách sâu rộng về đặc điểm gen  $\alpha$ -globin, xác định các đột biến

gây bệnh, mối liên quan giữa kiểu gen và kiểu hình của  $\alpha$ -thalassemia, đóng vai trò quan trọng trong việc tiên lượng mức độ nặng của bệnh và đưa ra các quyết định điều trị, theo dõi phù hợp [3]. Xuất phát từ những lý do trên, nghiên cứu: “Ứng dụng kỹ thuật Gap-PCR phát hiện đột biến mất đoạn gen alpha-globin gây bệnh Hemoglobin H” được thực hiện với mục tiêu: Xác định tỷ lệ một số loại đột biến mất đoạn gen alpha-globin và kiểu gen của bệnh HbH bằng kỹ thuật Gap-polymerase chain reaction (Gap-PCR).

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Bệnh nhân HbH đến khám và điều trị tại Bệnh viện Huyết Học-Truyền Máu Cần Thơ từ 06/2021 đến 06/2022.

- **Tiêu chuẩn chọn mẫu:** Bệnh nhân được chẩn đoán bệnh HbH khi phân tích thành phần huyết sắc tố có thành phần HbH và/hoặc HbBart's. Bệnh nhân đồng ý tham gia nghiên cứu.

- **Tiêu chuẩn loại trừ:** Bệnh nhân thiếu máu do nguyên nhân khác như thiếu máu thiếu sắt,  $\beta$ -thalassemia.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

- **Thiết kế nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang.

- **Thời gian nghiên cứu:** Từ tháng 6/2021 đến tháng 6/2022.

- **Cỡ mẫu:** 48 mẫu.

- **Phương pháp chọn mẫu:** Chọn mẫu thuận tiện đúng tiêu chuẩn chọn mẫu và tiêu chuẩn loại trừ mẫu đến khi đủ số lượng mẫu cần nghiên cứu.

- **Nội dung nghiên cứu:** Xác định tỷ lệ một số đột biến mất đoạn gen alpha-globin và kiểu gen của bệnh HbH bằng kỹ thuật Gap-polymerase chain reaction (Gap-PCR).

- **Phương pháp thu thập, xử lý số liệu:**

+ Ly trích DNA: DNA ly trích từ máu toàn phần sử dụng bộ ly trích DNA Blood Top Pure (ABT, Việt Nam). Độ tinh sạch và nồng độ DNA xác định bằng thiết bị đo quang phổ kế BioDrop uLite (BioDrop, Anh).

+ Phản ứng Gap-PCR: mỗi 50 $\mu$ L phản ứng chứa 100-200ng DNA, 11 đoạn mồi (Bảng 1), 200 $\mu$ M của mỗi dNTP, 1,5mM MgCl<sub>2</sub>, 1X Q-solution và 2,5U HotStarTaq DNA polymerase trong dung dịch đệm phản ứng (Qiagen, Đức). Giai đoạn biến tính ban đầu trong 15 phút ở 96°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 cuối cùng ở 72°C.

+ Điện di gel agarose: 5 $\mu$ L sản phẩm PCR điện di bằng gel agarose 1,5% trong dung dịch đệm Tris-Borate-EDTA 1X ở 10 volt/cm khoảng 45-60 phút để đọc kết quả.

Bảng 1. Trình tự các mồi và kích thước sản phẩm trong kỹ thuật Gap-PCR [10]

Tên mồi	Trình tự mồi (5'=>3')	Nồng độ	Nhiệt độ nóng chảy	Kích thước sản phẩm
LIS1-F	GTCGTCCTACTGGCAGCGTAGATC	0,5 $\mu$ M	65,9°C	2503bp
LIS1-R	GATTCCAGGTTGTAGACGGACTG	0,5 $\mu$ M	64,6°C	
$\alpha$ 2/3.7-F	CCCCTCGCCAAGTCCACCC	0,2 $\mu$ M	66,0°C	2022bp
3.7-R	AAAGCACTCTAGGGTCCAGCG	0,2 $\mu$ M	63,3°C	
$\alpha$ 2/3.7-F	CCCCTCGCCAAGTCCACCC	0,2 $\mu$ M	66,0°C	1800bp

Tên mồi	Trình tự mồi (5'=>3')	Nồng độ	Nhiệt độ nóng chảy	Kích thước sản phẩm
$\alpha 2$ -R	AGACCAGGAAGGGCCGGTG	0,2 $\mu$ M	63,8 °C	
4.2-F	GGTTTACCCATGTGGTGCCTC	0,5 $\mu$ M	63,3 °C	1628bp
4.2-R	CCCGTTGGATCTTCTCATTTCCC	0,5 $\mu$ M	64,6 °C	
SEA-F	CGATCTGGGCTCTGTGTTCTC	0,2 $\mu$ M	63,3 °C	1349bp
SEA-R	AGCCCACGTTGTGTTTCATGGC	0,2 $\mu$ M	63,3 °C	
THAI-F	GGAAGTGGGCTGAGCCCTTACAG	0,3 $\mu$ M	65,2 °C	1024bp
THAI-R	CAAGTGGGCTGAGCCCTTACAG	0,3 $\mu$ M	65,2 °C	

Các số liệu sau khi thu thập được mã hóa và xử lý bằng phần mềm SPSS 18.0.

### III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

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

Bảng 2. Đặc điểm về tuổi của bệnh nhân HbH

Tuổi	Bệnh HbH (n=48)
Tuổi trung bình $\pm$ Độ lệch chuẩn	44,1 $\pm$ 20,4
Giá trị nhỏ nhất - Giá trị lớn nhất	9,0 – 81,0

Nhận xét: Tuổi trung bình của bệnh HbH là 44 tuổi, lớn nhất là 81 tuổi và nhỏ nhất là 9 tuổi.

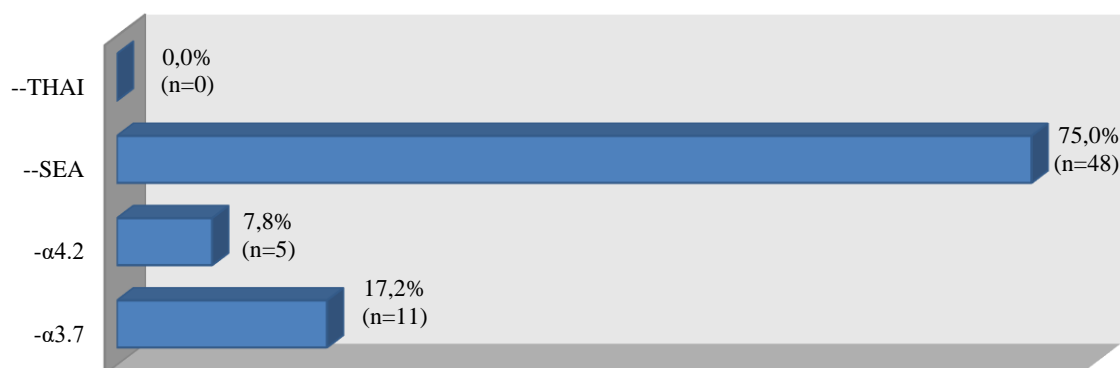
Bảng 3. Đặc điểm huyết học của bệnh nhân HbH

Chỉ số	Giá trị trung bình $\pm$ Độ lệch chuẩn	Giá trị tham chiếu
RBC ( $\times 10^{12}/L$ )	3,8 $\pm$ 0,7	3,9-5,4
HGB (g/dL)	77,5 $\pm$ 13,1	125,0-145,0
MCV (fL)	74,6 $\pm$ 8,3	85,0-95,0
MCH (pg)	20,5 $\pm$ 2,1	28,0-32,0
RDW-CV (%)	25,6 $\pm$ 4,1	11,5-14,5
HbA (%)	87,4 $\pm$ 7,4	96,8-97,8
HbA <sub>2</sub> (%)	1,4 $\pm$ 0,6	2,2-3,2
HbF (%)	0,2 $\pm$ 0,7	0,5-1,0
HbH (%)	8,4 $\pm$ 6,7	-
HbBart's (%)	0,9 $\pm$ 1,3	-
HbE (%)	0,9 $\pm$ 2,9	-
HbC (%)	0,4 $\pm$ 0,8	-
Tỷ lệ hồng cầu lưới (%)	6,5 $\pm$ 1,9	0,5-2,5
Tỷ lệ thể vùi HbH (%)	23,7 $\pm$ 5,9	-
Phết máu ngoại biên	Hồng cầu nhỏ (64,6%), nhược sắc (91,7%), đa hình dạng (89,6%), hồng cầu nhân (16,7%), thể vùi Howell Jolly (8,3%)	

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

Nhận xét: Bệnh HbH có các chỉ số RBC, HGB, MCV, MCH giảm, RDW-CV tăng; thành phần HbH và HbBart's tăng, xuất hiện HbC và HbE; tỷ lệ hồng cầu lưới và thể vùi HbH tăng; ghi nhận thay đổi nhiều về đặc điểm hình thái tế bào hồng cầu với hồng cầu nhỏ nhược sắc, đa hình dạng, xuất hiện hồng cầu nhân và thể vùi Howell Jolly.

### 3.2. Tỷ lệ một số loại đột biến mất đoạn gen $\alpha$ -globin của bệnh HbH



Biểu đồ 1. Tỷ lệ một số loại đột biến mất đoạn gen  $\alpha$ -globin ở bệnh HbH

Nhận xét: Ghi nhận 64 alen có đột biến mất đoạn gen  $\alpha$ -globin, trong đó: đột biến  $-^{SEA}$  chiếm tỷ lệ cao nhất trong các alen đột biến với 75,0%, tiếp theo là đột biến  $-\alpha^{3.7}$  với 17,2%, đột biến  $-\alpha^{4.2}$  với 7,8% và chưa ghi nhận đột biến  $--^{THAI}$  trong nghiên cứu.

### 3.3. Kiểu gen của bệnh HbH

Bảng 4. Kiểu gen của bệnh HbH

Kiểu gen bệnh HbH		Tần số (n)	Tỷ lệ (%)
Dạng 2 đột biến kết hợp	$(--^{SEA}/-\alpha^{3.7})$	11	22,9
	$(--^{SEA}/-\alpha^{4.2})$	5	10,4
Dạng 1 đột biến	$(--^{SEA}/\alpha\alpha)$	32	66,7
Tổng số		48	100

Nhận xét: Bệnh HbH có kiểu gen dạng 1 đột biến  $(--^{SEA}/\alpha\alpha)$  chiếm tỷ lệ cao nhất với 66,7%; dạng 2 đột biến kết hợp chiếm tỷ lệ 33,3%, bao gồm 2 kiểu gen:  $(--^{SEA}/-\alpha^{3.7})$  chiếm tỷ lệ 22,9% và  $(--^{SEA}/-\alpha^{4.2})$  chiếm tỷ lệ 10,4%.

## IV. BÀN LUẬN

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

Nghiên cứu ghi nhận tuổi trung bình của bệnh nhân HbH là 44 tuổi, lớn nhất là 81 tuổi và nhỏ nhất là 9 tuổi. Theo nghiên cứu của tác giả Nguyễn Thị Thu Hà trên 523 bệnh nhân HbH tại Viện Huyết Học-Truyền Máu Trung ương năm 2021, tuổi trung bình là 30 tuổi [1]. Tuổi trung bình của bệnh nhân HbH trong nghiên cứu cao hơn tác giả Nguyễn Thị Thu Hà. Điều này có thể do sự khác biệt về quần thể và cỡ mẫu nghiên cứu.

Bệnh nhân HbH có các chỉ số hồng cầu: RBC, HGB, MCV, MCH đều giảm, RDW-CV tăng; thành phần HbA và HbA<sub>2</sub> giảm, HbH và HbBart's tăng, xuất hiện HbC và HbE; tỷ lệ hồng cầu lưới và thể vùi HbH tăng; thay đổi rõ về đặc điểm hình thái tế bào hồng cầu với hồng cầu nhỏ, nhược sắc, đa hình dạng, xuất hiện hồng cầu nhân và thể vùi Howell Jolly. Kết quả này phản ánh tình trạng thiếu máu mức độ trung bình đến nặng của các bệnh nhân HbH trong nghiên cứu. Đây là các chỉ số xét nghiệm có giá trị trong sàng lọc và chẩn đoán các bệnh lý thiếu máu. Đặc biệt, sự xuất hiện của các thành phần hemoglobin có giá trị quan trọng chẩn đoán bệnh HbH như thành phần HbH với tỷ lệ  $8,4\pm 6,7\%$ , HbBart's với tỷ lệ  $0,9\pm 1,3\%$ , HbC với tỷ lệ  $0,4\pm 0,8\%$  và thể vùi HbH với tỷ lệ  $23,7\pm 5,9\%$ . Kết quả này cũng tương tự với các nghiên cứu của các tác giả khác tại Việt Nam và trên thế giới [2], [4],

[5], [6], [7], [11], [12], [13].

#### 4.2. Tỷ lệ một số loại đột biến mất đoạn gen $\alpha$ -globin ở bệnh HbH

DNA của 48 bệnh nhân HbH tham gia nghiên cứu được tiến hành khảo sát 4 loại đột biến mất đoạn gen  $\alpha$ -globin phổ biến tại Việt Nam bằng kỹ thuật Gap-PCR, bao gồm:  $--^{SEA}$ ,  $--^{THAI}$ ,  $-\alpha^{3.7}$ ,  $-\alpha^{4.2}$  tại Phòng Sinh học phân tử, Trường Đại học Y Dược Cần Thơ.

Kết quả khảo sát ghi nhận tất cả 48 bệnh nhân HbH đều mang đột biến mất đoạn gen  $\alpha$ -globin. Trong đó, 64 alen có đột biến mất đoạn gen: phổ biến nhất là đột biến  $--^{SEA}$  với 75,0%, tiếp theo là đột biến  $-\alpha^{3.7}$  với 17,2% và đột biến  $-\alpha^{4.2}$  với 7,8% các alen có đột biến. Tỷ lệ các loại đột biến sàng lọc trong nghiên cứu tương đương với nghiên cứu của tác giả Nguyễn Thị Thu Hà tại Viện Huyết Học-Truyền Máu Trung ương năm 2017 và tác giả Bùi Thị Kim Lý tại Bệnh viện Truyền Máu-Huyết Học Tp. Hồ Chí Minh năm 2016 với tỷ lệ các loại đột biến  $--^{SEA}$ ,  $-\alpha^{3.7}$ ,  $-\alpha^{4.2}$  lần lượt là 70,9%, 10,2%, 2,4% và 87,4%, 9,6%, 2,4% [2], [9]. Trong nghiên cứu của tác giả Zhuang J và cộng sự tại Quảng Châu, Trung Quốc năm 2021, tỷ lệ đột biến  $--^{SEA}$  chiếm 69,0%,  $-\alpha^{3.7}$  chiếm 21,3% và  $-\alpha^{4.2}$  chiếm 4,0% [13]. Tỷ lệ các loại đột biến trong các nghiên cứu này tương tự với kết quả nghiên cứu của chúng tôi. Qua đó cho thấy rằng, đột biến mất đoạn hai gen  $--^{SEA}$  là đột biến phổ biến nhất tại Việt Nam và các nước trong khu vực Châu Á [2], [9], [13].

Nghiên cứu chưa ghi nhận trường hợp nào mang đột biến mất đoạn hai gen  $--^{THAI}$ . Theo tác giả Bùi Thị Kim Lý, tỷ lệ đột biến  $--^{THAI}$  tại miền Nam Việt Nam là tương đối thấp với 0,6% [9]. Điều này cho thấy rằng đột biến  $--^{THAI}$  không phổ biến tại Việt Nam. Vì thế với cỡ mẫu còn hạn chế (n=48) trong nghiên cứu chưa phát hiện được đột biến  $--^{THAI}$ .

#### 4.3. Kiểu gen của bệnh HbH

Dựa vào kết quả khảo sát đột biến mất đoạn gen  $\alpha$ -globin bằng kỹ thuật Gap-PCR xác định kiểu gen của các bệnh nhân HbH, trong đó: kiểu gen dạng 1 đột biến ( $--^{SEA}/\alpha$ ) chiếm tỷ lệ cao nhất với 66,7% và dạng 2 đột biến kết hợp chiếm tỷ lệ 33,3%, bao gồm 2 kiểu gen là ( $--^{SEA}/-\alpha^{3.7}$ ) chiếm tỷ lệ 22,9% và ( $--^{SEA}/-\alpha^{4.2}$ ) chiếm tỷ lệ 10,4%.

Trong nghiên cứu của tác giả Ngô Diễm Ngọc năm 2018, kiểu gen ( $--^{SEA}/-\alpha^{3.7}$ ) chiếm tỷ lệ 21,6% và kiểu gen ( $--^{SEA}/-\alpha^{4.2}$ ) chiếm tỷ lệ 9,2% [6]. Theo nghiên cứu của tác giả Nguyễn Thị Thu Hà năm 2017, kiểu gen ( $--^{SEA}/-\alpha^{3.7}$ ) chiếm tỷ lệ 25,0% và kiểu gen ( $--^{SEA}/-\alpha^{4.2}$ ) chiếm tỷ lệ 6,3% [2]. Một nghiên cứu khác của tác giả Traivaree C tại Thái Lan năm 2018 ghi nhận ( $--^{SEA}/-\alpha^{3.7}$ ) chiếm tỷ lệ 41,3% kiểu gen của bệnh HbH [12]. Theo nghiên cứu của tác giả Nong X tại Trung Quốc năm 2020 ghi nhận kiểu gen ( $--^{SEA}/-\alpha^{3.7}$ ) chiếm tỷ lệ 35,3% và kiểu gen ( $--^{SEA}/-\alpha^{4.2}$ ) chiếm tỷ lệ 13,7% [11]. Như vậy, tỷ lệ kiểu gen ( $--^{SEA}/-\alpha^{3.7}$ ) và ( $--^{SEA}/-\alpha^{4.2}$ ) trong nghiên cứu của chúng tôi tương đương với các tác giả tại Việt Nam và trên thế giới [2], [6], [11], [12].

Kết quả nghiên cứu ghi nhận 32 trường hợp khi điện di hemoglobin có HbH, có hoặc không có HbBart's và một số trường hợp có HbC nhưng khi phân tích đột biến mất đoạn gen thì chỉ mang một đột biến mất hai gen ( $--^{SEA}/\alpha$ ), chiếm tỷ lệ 66,6% kiểu gen của bệnh nhân HbH. Chúng tôi dự đoán đây là kiểu gen của bệnh HbH dạng không mất đoạn. Theo nghiên cứu của tác giả Ngô Diễm Ngọc năm 2018, bệnh HbH dạng không mất đoạn chiếm tỷ lệ cao với 68,1%, trong đó kiểu gen ( $--^{SEA}/-\alpha^{HbCS}$ ) chiếm tỷ lệ cao nhất với 54,6% [6]. Trong nghiên cứu tác giả Traivaree C năm 2018, bệnh HbH dạng không mất đoạn chiếm tỷ lệ 50,0% và kiểu gen ( $--^{SEA}/-\alpha^{HbCS}$ ) chiếm tỷ lệ cao nhất với 46,5% [12].

Từ đây cho thấy rằng bệnh HbH dạng không mất đoạn chiếm tỷ lệ cao và  $-\alpha^{HbCS}$  là

đột biến điểm phổ biến tại Việt Nam và khu vực Đông Nam Á [6], [12]. Vì giới hạn nghiên cứu khảo sát một số loại đột biến mất đoạn gen phổ biến bằng kỹ thuật Gap-PCR nên chúng tôi chưa xác định kiểu gen đầy đủ của dạng 1 đột biến ( $--^{SEA}/\alpha\alpha$ ) ở nhóm bệnh HbH không mất đoạn. Nhóm bệnh HbH không mất đoạn này cần khảo sát một số đột biến điểm phổ biến hoặc giải trình tự gen  $\alpha$ -globin để xác định đầy đủ kiểu gen.

## V. KẾT LUẬN

Tỷ lệ một số loại đột biến mất đoạn gen  $\alpha$ -globin gây bệnh HbH: đột biến  $--^{SEA}$  chiếm tỷ lệ 75,0%, đột biến  $-\alpha^{3.7}$  chiếm tỷ lệ 17,2%, đột biến  $-\alpha^{4.2}$  chiếm tỷ lệ 7,8% và chưa ghi nhận đột biến  $--^{THAI}$  trong nghiên cứu. Kiểu gen của bệnh HbH bao gồm: dạng 1 đột biến ( $--^{SEA}/\alpha\alpha$ ) chiếm tỷ lệ 66,7%, kiểu gen ( $--^{SEA}/-\alpha^{3.7}$ ) chiếm tỷ lệ 22,9% và kiểu gen ( $--^{SEA}/-\alpha^{4.2}$ ) chiếm tỷ lệ 10,4%. Gap-PCR là kỹ thuật sinh học phân tử hiệu quả và cần thiết trong sàng lọc các đột biến mất đoạn gen  $\alpha$ -globin để chẩn đoán bệnh HbH. Nghiên cứu đã cung cấp một cái nhìn tổng quan về tỷ lệ các đột biến mất đoạn gen  $\alpha$ -globin phổ biến ở Việt Nam và có thể đóng vai trò là điểm khởi đầu cho các nghiên cứu sâu hơn về bệnh lý di truyền này.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thị Thu Hà, Vũ Hải Toàn, Đặng Thị Vân Hồng, Lê Thị Thanh Tâm, Hoàng Phương Linh (2021), Một số đặc điểm nhân khẩu học của bệnh nhân thalassemia điều trị tại Viện Huyết Học-Truyền Máu Trung ương năm 2020. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 502(1), tr. 150-157.
2. Nguyễn Thị Thu Hà (2017), *Nghiên cứu đặc điểm đột biến gen globin và theo dõi điều trị thải sắt ở bệnh nhân thalassemia tại Viện Huyết học-Truyền máu Trung ương giai đoạn 2013-2016*, Luận án tiến sĩ y học, Đại học Y Hà Nội.
3. Nguyễn Khắc Hân Hoan (2013), *Nghiên cứu tầm soát và chẩn đoán trước sinh bệnh alpha và beta thalassemia*, Luận án tiến sĩ y học, Đại học Y Dược Tp.Hồ Chí Minh.
4. Đỗ Thị Quỳnh Mai, Nguyễn Ngọc Sáng, Bạch Thị Như Quỳnh (2021), Xác định đột biến gây thalassemia ở trẻ em tại Bệnh viện Trẻ Em Hải Phòng. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 509(1), tr. 361-365.
5. Lê Thị Hoàng Mỹ (2018), *Nghiên cứu tần suất, đặc điểm thalassemia và các bệnh hemoglobin trong cộng đồng dân tộc Khmer ở đồng bằng sông Cửu Long*, Luận án tiến sĩ y học, Đại học Y Hà Nội.
6. Ngô Diễm Ngọc (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, Đại học Y Hà Nội.
7. Phạm Thị Ngọc, Nguyễn Đình Tuyền (2022), Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng theo thể bệnh ở trẻ em mắc thalassemia tại Bệnh viện Sản-Nhi tỉnh Quảng Ngãi. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 517(1), tr. 112-116.
8. Angastiniotis M, Eleftheriou A, Galanello R, Harteveld CL, Petrou M, et al. (2013), *Prevention of thalassaemias and other haemoglobin disorders*, Thalassaemia International Federation, Cyprus, tr. 38-40.
9. Bui TKL, Phu CD, Hoang TC (2016), Spectrum of common  $\alpha$ -globin deletion mutations in the southern region of Vietnam. *Hemoglobin*, 40(3), pp. 206-207.
10. Chong SS, Boehm CD, Higgs DR (2000), Single-tube Multiplex-PCR screen for common deletional determinants of alpha-thalassemia. *Blood*, 95(1), pp. 360-362.
11. Nong X, Xu G, Li J, Zhong S, Liu C, et al. (2020), Study of the genotypic and hematological feature of hemoglobin H disease in West Guangxi area. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*, 37(12), pp. 1326-1330.
12. Traivaree C, Boonyawat B, Monsereenusorn C, Rujkijyanont P, Photia A (2018), Clinical and molecular genetic features of HbH and AEBart's diseases in central Thai children. *Appl Clin Genet*, 11, pp. 23-30.

13. Zhuang J, Zhang N, Wang Y, Zhang H, Zheng Y, *et al.* (2021), Molecular characterization analysis of thalassemia and hemoglobinopathy in Quanzhou, Southeast China: A large-scale retrospective study. *Front Genet*, 12, pp. 1-11.

(Ngày nhận bài: 13/10/2022 - Ngày duyệt đăng: 18/02/2023)

---