

# Nghiên cứu đặc điểm phân tử gene beta globin của bệnh nhân beta thalassemia tại Bệnh viện Trung ương Huế

Lê Phan Tường Quỳnh<sup>1\*</sup>, Hà Thị Minh Thi<sup>1</sup>, Lê Phan Minh Triết<sup>2</sup>, Tôn Thất Minh Trí<sup>3</sup>,  
Đông Sĩ Sảng<sup>3</sup>, Phan Thị Thùy Hoa, Lê Tuấn Linh<sup>1</sup>, Trần Thị Như Ngà<sup>4</sup>

(1) Bộ môn Di truyền Y học, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

(2) Bộ môn Huyết học, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

(3) Trung tâm Huyết học truyền máu, Bệnh viện Trung ương Huế

(4) Trung tâm Sàng lọc - Chẩn đoán trước sinh và sơ sinh, Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế

## Tóm tắt

**Đặt vấn đề:** Thalassemia là bệnh lý di truyền đơn gene phổ biến nhất trên thế giới. Mức độ nghiêm trọng của bệnh phụ thuộc vào mức độ mất cân bằng chuỗi  $\alpha$ -globin và  $\beta$ -globin. Đề tài nhằm hai mục tiêu: (1) Mô tả đặc điểm lâm sàng và huyết học ở bệnh nhân  $\beta$ -thalassemia; (2) Khảo sát đặc điểm đột biến gene  $\beta$ -globin bằng kỹ thuật giải trình tự và mối liên quan của kiểu gene  $\beta$ -globin với mức độ bệnh  $\beta$ -thalassemia. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** 57 bệnh nhân  $\beta$ -thalassemia đang điều trị tại Bệnh viện Trung ương Huế được giải trình tự toàn bộ gene  $\beta$ -globin. **Kết quả:** 80,7% bệnh nhân  $\beta$ -thalassemia thuộc thể trung gian, 19,3% thể nặng. 100% thiếu máu, 75,4% lách to, 50,9% gan to, 38,6% bộ mặt thalassemia, 28,1% vàng da và 15,8% quá tải sắt; Các chỉ số hồng cầu giảm: Hb  $7,5 \pm 1,3$  g/dL, MCV  $70,9 \pm 8,4$  fL, MCH  $20,5 \pm 2,1$  pg. Thành phần hemoglobin gồm HbA  $35,2 \pm 33,9\%$ , HbA<sub>2</sub>  $6,1 \pm 2,7\%$ , HbF  $24,8 \pm 18,0\%$ , và HbE  $38,6 \pm 15,2\%$ . 9 đột biến gene  $\beta$ -globin được xác định. Kiểu gene phổ biến nhất là  $\beta^E/\beta^0$ , chiếm 80,7%. Các kiểu gene  $\beta^E/\beta^A$ ,  $\beta^0/\beta^A$  và  $\beta^E/\beta^+$  chỉ gặp ở bệnh nhân  $\beta$ -thalassemia thể trung gian,  $\beta^0/\beta^0$  chỉ gặp ở bệnh nhân thể nặng,  $\beta^E/\beta^0$  gặp ở cả hai thể. **Kết luận:** Có sự khác biệt về tuổi bắt đầu truyền máu giữa các kiểu gene, trong đó kiểu gene  $\beta^0/\beta^0$  là nặng nhất.

**Từ khóa:**  $\beta$ -thalassemia thể trung gian,  $\beta$ -thalassemia thể nặng, kiểu gene.

## Abstract

# Molecular characterization of beta globin gene in beta thalassemia patients at Hue Central Hospital

Le Phan Tuong Quynh<sup>1</sup>, Ha Thi Minh Thi<sup>1</sup>, Le Phan Minh Triet<sup>2</sup>, Ton That Minh Tri<sup>3</sup>,  
Dong Si Sang<sup>3</sup>, Phan Thi Thuy Hoa<sup>3</sup>, Le Tuan Linh<sup>1</sup>, Tran Thi Nhu Nga<sup>4</sup>

(1) Department of Medical Genetics, University of Medicine and Pharmacy, Hue University

(2) Department of Hematology, University of Medicine and Pharmacy, Hue University

(3) Hematology and Blood Transfusion Center, Hue Central Hospital

(4) Center of Prenatal and Neonatal Screening-Diagnosis, University of Medicine and Pharmacy Hospital

**Background:** Thalassemia is the most common monogenic disease worldwide. The severity of thalassemia depends on the degree of imbalance between the  $\alpha$ -globin and  $\beta$ -globin chains. The aims of the current study were (1) to describe clinical and hematological characteristics of  $\beta$ -thalassemia patients; and (2) to investigate mutations of  $\beta$ -globin gene using Sanger sequencing, as well as the association between  $\beta$ -globin genotype and severity of  $\beta$ -thalassemia. **Materials and method:** 57  $\beta$ -thalassemia patients treated at Hue Central Hospital were examined by sequencing the whole  $\beta$ -globin gene. **Results:** 80.7% with  $\beta$ -thalassemia intermedia, 19.3% with  $\beta$ -thalassemia major. Patients had 100% anemia, 75.4% splenomegaly, 50.9% hepatomegaly, 38.6% thalassemia facies, 28.1% jaundice and 15.8% iron overload; The red blood cell indices were decreased: Hb  $7.5 \pm 1.3$  g/dL, MCV  $70.9 \pm 8.4$  fL, MCH  $20.5 \pm 2.1$  pg. Hemoglobin composition included HbA  $35.2 \pm 33.9\%$ , HbA<sub>2</sub>  $6.1 \pm 2.7\%$ , HbF  $24.8 \pm 18.0\%$ , and HbE  $38.6 \pm 15.2\%$ . Nine  $\beta$ -globin gene mutations were observed. The most common genotype was  $\beta^E/\beta^0$ , which occupied 80.7%. The  $\beta^E/\beta^A$ ,  $\beta^0/\beta^A$  and  $\beta^E/\beta^+$  genotypes were only found in  $\beta$ -thalassemia intermedia individuals, while the  $\beta^0/\beta^0$  genotype was limited to  $\beta$ -thalassemia major patients. The  $\beta^E/\beta^0$  genotype was seen in both types. **Conclusion:** There was differences in age of blood transfusion initiation between the genotypes. Among them, the  $\beta^0/\beta^0$  genotype was the most severe.

**Key words:**  $\beta$ -thalassemia intermedia,  $\beta$ -thalassemia major, genotype.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thalassemia là bệnh lý di truyền đơn gene phổ biến nhất trên thế giới với tần suất người mang gene bệnh khoảng 7%. Thalassemia đặc trưng bởi sự giảm tổng hợp của một trong hai chuỗi polypeptide  $\alpha$ -globin hoặc  $\beta$ -globin, gây nên bệnh  $\alpha$ -thalassemia hoặc  $\beta$ -thalassemia. Mức độ nghiêm trọng của bệnh phụ thuộc vào mức độ mất cân bằng chuỗi  $\alpha$ -globin và  $\beta$ -globin.

$\beta$ -thalassemia gồm có ba thể là thể nhẹ, thể trung gian và thể nặng. Việc dự đoán chính xác kiểu hình nhẹ có thể tránh truyền máu không cần thiết và các biến chứng của truyền máu, trong khi chẩn đoán sớm bệnh thalassemia thể nặng sẽ cho phép bắt đầu sớm việc truyền máu, do đó ngăn ngừa tình trạng quá mẫn và nhạy cảm với kháng nguyên hồng cầu [1]. Ngoài ra, nghiên cứu về cơ sở di truyền bệnh  $\beta$ -thalassemia là nền tảng cho sự hiểu biết về đặc điểm lâm sàng, huyết học; đồng thời cũng là cơ sở cho việc điều trị, dự phòng, chẩn đoán trước sinh và tư vấn di truyền.

Đột biến gene  $\beta$ -globin làm giảm tổng hợp chuỗi  $\beta$ -globin ( $\beta^*$ ) hoặc không tổng hợp được chuỗi  $\beta$ -globin ( $\beta^0$ ) dẫn đến bệnh lý  $\beta$ -thalassemia. Tần suất cũng như đặc điểm phân tử gene  $\beta$ -globin là khác nhau giữa các vùng. Ở Việt Nam, tần suất người mang gene  $\beta$ -thalassemia thay đổi từ 1,5 - 25%, tần suất của HbE từ 1 - 9% tùy thuộc vào các nhóm dân cư khác nhau. Một số nghiên cứu ở miền Bắc, miền Nam và miền Trung Việt Nam cho thấy sự khác nhau trong tần suất cũng như loại đột biến gene  $\beta$ -globin [2 - 4].

Các nghiên cứu ở Việt Nam trước đây chủ yếu tập trung vào việc phát hiện các đột biến gene và tỷ lệ các đột biến ở bệnh nhân  $\beta$ -thalassemia, do đó chúng tôi nhận thấy cần có nhiều nghiên cứu hơn nữa về mối liên quan giữa kiểu gene và mức độ bệnh nhằm giúp ích trong việc tiên lượng cũng như điều trị bệnh. Do đó, chúng tôi thực hiện đề tài này nhằm hai mục tiêu:

(1) *Mô tả đặc điểm lâm sàng và huyết học ở bệnh nhân  $\beta$ -thalassemia.*

(2) *Khảo sát đặc điểm đột biến gene  $\beta$ -globin bằng kỹ thuật giải trình tự và mối liên quan của kiểu gene  $\beta$ -globin với mức độ bệnh  $\beta$ -thalassemia.*

## 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

57 bệnh nhân  $\beta$ -thalassemia được điều trị tại Khoa Huyết học lâm sàng, Bệnh viện Trung ương Huế từ 04/2020 đến 06/2021.

Bệnh nhân đã được chẩn đoán mắc bệnh  $\beta$ -thalassemia theo tiêu chuẩn chẩn đoán của Bộ Y tế [5]:

- Hội chứng thiếu máu mạn tính.
- Hội chứng tan máu mạn tính.
- Tổng phân tích tế bào máu ngoại vi có Hb giảm, hồng cầu nhỏ nhược sắc.
- Thành phần huyết sắc tố có HbA<sub>2</sub> tăng và/hoặc HbF tăng.

Mức độ bệnh  $\beta$ -thalassemia thể trung gian,  $\beta$ -thalassemia thể nặng được phân loại theo tiêu chuẩn của Bộ y tế và Hiệp hội thalassemia quốc tế dựa vào tuổi xuất hiện triệu chứng, tần suất truyền máu, lách to, chỉ số hồng cầu, thành phần hemoglobin và đặc điểm di truyền [5, 6].

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

*Bước 1: Chọn mẫu tại Khoa Huyết học lâm sàng, Bệnh viện Trung ương Huế*

- Chọn mẫu ngẫu nhiên thuận tiện.
- Ghi nhận triệu chứng lâm sàng, kết quả xét nghiệm của bệnh nhân được chẩn đoán  $\beta$ -thalassemia.
- Mỗi bệnh nhân được lấy 2 ml máu tĩnh mạch có chống đông bằng EDTA.

*Bước 2: Phân tích thành phần huyết sắc tố*

- Điện di hemoglobin để xác định thành phần huyết sắc tố.

*Bước 3: Tách chiết DNA*

- DNA được tách chiết bằng kit Wizard Genomic DNA Purification (Promega).
- DNA sau khi tách chiết được kiểm tra nồng độ và độ tinh sạch bằng máy Nanodrop 2000, lưu ở -20°C cho đến khi phân tích.

*Bước 4: Xác định đột biến gene  $\beta$ -globin bằng kỹ thuật giải trình tự Sanger*

- Thực hiện bốn phản ứng PCR với các cặp mồi đặc hiệu để khuếch đại các phần của đoạn gene  $\beta$ -globin bao gồm: Đoạn 1 từ -293 đến +237 gồm vùng promoter, exon 1 và một phần intron 1; Đoạn 2 từ +34 đến +628 gồm exon 1, intron 1, exon 2 và một phần intron 2; Đoạn 3 từ +622 đến +1155 bao gồm phần giữa của intron 2; Đoạn 4 từ +1099 đến +1674 bao gồm một phần intron 2 và toàn bộ exon 3. Trình tự mồi như sau:

+ Mồi khuếch đại đoạn 1:	B1-F:	CTTACCAAGCTGTGATTCCA
	B1-R:	GTCAGTGCCTATCAGAAACC
+ Mồi khuếch đại đoạn 2:	B2-F:	AACCTCAAACAGACACCATG
	B2-R:	ACTTCCACACTGATGCAATC
+ Mồi khuếch đại đoạn 3:	B3-F:	TGGAAGTCTCAGGATCGTTT
	B3-R:	GCTATTGCCTTAACCCAGAA
+ Mồi khuếch đại đoạn 4:	B4-F:	GCCTCTTGCACCATTCTAA
	B4-R:	TTTAAATGCACTGACCTCCC

- Thành phần phản ứng bao gồm 12,5 ml GoTaq Green MasterMix (Promega), 1 ml mỗi mồi (10 pmol/ml), 1 ml DNA (100 ng/ml), 9,5 ml nước cất đã khử nuclease.

- Điều kiện luân nhiệt: Biến tính ban đầu: 95°C trong 5 phút; 35 chu kỳ, mỗi chu kỳ gồm: giai đoạn biến tính 95°C trong 30 giây, gắn mồi 56°C hoặc 58°C (tùy theo cặp mồi) trong 30 giây, kéo dài mồi 72°C trong 1 phút; kéo dài cuối cùng 72°C trong 10 phút.

- Đọc kết quả: Sản phẩm PCR thu được sẽ được

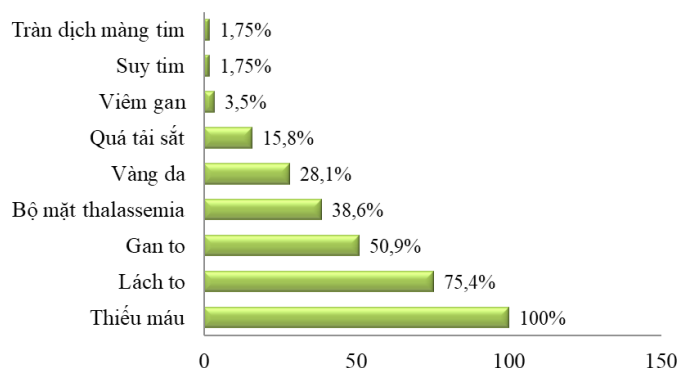
kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1% ở điện thế 80 V trong 1 giờ, có kèm thang chuẩn 100 bp. Xem hình ảnh điện di dưới đèn cực tím.

- Sản phẩm PCR được gửi đi giải trình tự ở công ty 1st BASE với trụ sở chính đặt tại Malaysia.

- Kết quả giải trình tự được xuất ra dưới dạng file .ab1 và được phân tích bằng phần mềm BioEdit. Sau đó, sử dụng công cụ BLAST của NCBI để đối chiếu trình tự nucleotide với các trình tự chuẩn trên Genbank để xác định đột biến.

### 3. KẾT QUẢ

#### 3.1. Đặc điểm lâm sàng của bệnh nhân $\beta$ -thalassemia



**Biểu đồ 1.** Triệu chứng lâm sàng của bệnh nhân  $\beta$ -thalassemia

*Nhận xét:* Tất cả các bệnh nhân nhập viện đều có thiếu máu với 29,8% thiếu máu trung bình và 70,2% thiếu máu nặng. Các đặc điểm lâm sàng chiếm tỷ lệ cao như lách to, gan to, bộ mặt thalassemia, vàng da. Các đặc điểm lâm sàng khác chiếm tỷ lệ thấp.

#### 3.2. Đặc điểm huyết học ở bệnh nhân $\beta$ -thalassemia

**Bảng 1.** Chỉ số hồng cầu và thành phần hemoglobin ở bệnh nhân  $\beta$ -thalassemia

Đặc điểm huyết học	Toàn bộ n = 57	Thể trung gian n = 46	Thể nặng n = 11	p
RBC (T/L)	3,7 ± 0,8	3,8 ± 0,8	3,4 ± 0,6	0,117
Hb (g/dL)	7,5 ± 1,3	7,5 ± 1,2	7,4 ± 1,5	0,791
Hct (%)	25,9 ± 4,0	26,0 ± 4,0	25,4 ± 4,0	0,661
MCV (fL)	70,9 ± 8,4	69,6 ± 8,4	76,2 ± 6,6	0,017
MCH (pg)	20,5 ± 3,0	20,2 ± 2,8	22,1 ± 3,1	0,037
MCHC (g/L)	28,9 ± 2,1	28,9 ± 2,0	28,9 ± 2,3	0,967
HbA (%)	35,2 ± 33,9	30,2 ± 33,1	56,1 ± 30,0	<b>0,021</b>

HbA <sub>2</sub> (%)	6,1 ± 2,7	6,3 ± 2,7	5,5 ± 2,8	0,358
HbF (%)	24,8 ± 18,0	26,5 ± 17,2	17,6 ± 20,0	0,141
HbE (%)*	38,6 ± 15,2	40,5 ± 14,6	28,6 ± 15,6	<b>0,042</b>

\* Có 51 bệnh nhân có thành phần HbE, trong đó bao gồm 42 bệnh nhân  $\beta$ -thalassemia thể trung gian và 9 bệnh nhân  $\beta$ -thalassemia thể nặng

Nhận xét: Không có sự khác biệt về các chỉ số hồng cầu giữa thể trung gian và thể nặng. Thành phần hemoglobin có sự thay đổi khá nhiều, đặc trưng của bệnh  $\beta$ -thalassemia với HbA giảm, HbA<sub>2</sub> và HbF tăng, có sự xuất hiện của HbE ở những bệnh nhân HbE/ $\beta$ -thalassemia.

### 3.3. Đặc điểm đột biến gene $\beta$ -globin và mối liên quan giữa kiểu gene $\beta$ -globin và mức độ bệnh $\beta$ -thalassemia

#### 3.3.1. Đặc điểm đột biến gene $\beta$ -globin

Bảng 2. Tỷ lệ đột biến gene  $\beta$ -globin

Type allele	Đột biến	Số lượng allele đột biến	Tỷ lệ (%)
$\beta^E$	cd 26 (G>A) (HbE)	51	47,7
	cd 17 (A>T)	30	28,03
	cds 41/42 (-TTCT)	12	11,21
$\beta^0$	IVS-I-1 (G>T)	6	5,6
	cds 71/72 (+A)	4	3,74
	cd 26 (G>T)	1	0,93
	cd 95 (+A)	1	0,93
$\beta^+$	IVS-II-654 (C>T)	1	0,93
	-28 (A>G)	1	0,93
<b>Tổng</b>		<b>107</b>	<b>100</b>

Nhận xét: 9 đột biến gene  $\beta$ -globin được phát hiện, trong đó các đột biến chiếm tỷ lệ cao nhất lần lượt là cd 26 (G > A) (HbE), cd 17 (A > T) và cds 41/42 (-TTCT), chiếm tỷ lệ lên đến 86,94%.

#### 3.3.2. Mối liên quan giữa kiểu gene $\beta$ -globin và mức độ bệnh $\beta$ -thalassemia

Bảng 3. Mối liên quan giữa kiểu gene  $\beta$ -globin và thể bệnh  $\beta$ -thalassemia

Kiểu gene	Thể trung gian		Thể nặng	
	n	%	n	%
$\beta^E/\beta^A$	3	100	-	-
$\beta^0/\beta^A$	4	100	-	-
$\beta^E/\beta^+$	2	100	-	-
$\beta^E/\beta^0$	37	80,4	9	19,6
$\beta^0/\beta^0$	-	-	2	100
<b>Tổng</b>	<b>46</b>		<b>11</b>	

Nhận xét: Kiểu gene chiếm tỷ lệ cao nhất là  $\beta^E/\beta^0$  với 80,7% (46/57). Các kiểu gene  $\beta^E/\beta^A$ ,  $\beta^0/\beta^A$  và  $\beta^E/\beta^+$  chỉ gặp ở bệnh nhân  $\beta$ -thalassemia thể trung gian,  $\beta^0/\beta^0$  chỉ gặp ở bệnh nhân thể nặng, trong khi đó kiểu gene  $\beta^E/\beta^0$  gặp ở cả bệnh nhân thể trung gian và thể nặng, thể trung gian chiếm tỷ lệ cao hơn thể nặng.

**3.3.3. Mối liên quan giữa kiểu gene  $\beta$ -globin với đặc điểm lâm sàng của bệnh nhân  $\beta$ -thalassemia**

**Bảng 4.** Mối liên quan giữa kiểu gene  $\beta$ -globin và tuổi bắt đầu truyền máu, tần suất truyền máu

Kiểu gene	Tuổi bắt đầu truyền máu	Tần suất truyền máu	Số lượng
$\beta^E/\beta^A$	44,0 ± 10,0	6,0 ± 5,6	3
$\beta^0/\beta^A$	41,5 ± 16,2	6,5 ± 5,3	4
$\beta^E/\beta^+$	36,5 ± 9,20	2,5 ± 0,7	3
$\beta^E/\beta^0$	14,2 ± 12,5	5,7 ± 3,7	46
$\beta^0/\beta^0$	1,2 ± 1,1	9,0 ± 4,2	3
<b>p</b>	<b>0,0009</b>	<b>0,561</b>	<b>57</b>

*Nhận xét:* Những bệnh nhân có kiểu gene  $\beta^0/\beta^0$  khởi phát bệnh sớm nhất, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Tần suất truyền máu giữa các kiểu gene không có sự khác biệt.

**4. BÀN LUẬN**

**4.1. Đặc điểm lâm sàng của bệnh nhân  $\beta$ -thalassemia**

Chúng tôi thực hiện nghiên cứu trên 57 bệnh nhân  $\beta$ -thalassemia, tuổi trung bình của nhóm nghiên cứu là 33,4 ± 12,3 tuổi, tỷ lệ nam và nữ lần lượt là 38,6% và 61,4%.

Thalassemia là một bệnh lý mạn tính, các triệu chứng xuất hiện từ từ và kéo dài liên tục suốt cuộc đời người bệnh. Các triệu chứng xuất hiện do hậu quả của thiếu máu tan máu kéo dài như lách to, bộ mặt thalassemia, gan to và vàng da. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ bệnh nhân có các triệu chứng do hậu quả của thiếu máu khá cao, bao gồm 42,1% bệnh nhân đã cắt lách và 33,3% bệnh nhân có lách to, 50,9% bệnh nhân có gan to, 38,6% có bộ mặt thalassmeia và 28,1% có vàng da (Biểu đồ 1).

Kết quả của chúng tôi tương tự với các nghiên cứu khác. Nguyễn Hoàng Nam (2019) nghiên cứu ở bệnh nhân nhi  $\beta$ -thalassemia cũng cho thấy các triệu chứng lách to hoặc đã cắt, gan to, bộ mặt thalassemia, vàng da vàng mắt là phổ biến và chiếm tỷ lệ lần lượt là 80,8%, 56,7%, 51% và 20,2% [7]. Nghiên cứu của Shoujaa (2019) trên các bệnh nhân  $\beta$ -thalassemia thể nặng và trung gian ghi nhận 59% bệnh nhân có bộ mặt thalassemia và 43,5% bệnh nhân đã cắt lách [8].

Việc truyền máu trong thời gian dài là nguyên nhân chính gây nên tình trạng ứ sắt ở những bệnh nhân thalassemia thể nặng, trong khi đó tăng hấp thụ sắt ở đường tiêu hóa là nguyên nhân quan trọng hơn dẫn đến ứ sắt ở bệnh nhân thalassemia thể trung gian. Tình trạng ứ sắt kéo dài sẽ gây nên các biến chứng, đặc biệt ở gan, tim và hệ nội tiết. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy có 15,8% bệnh nhân quá tải sắt, 3,5% viêm gan, 1,75% suy tim và 1,75% tràn dịch màng tim (Biểu đồ 1). Kết quả của

chúng tôi tương tự với nghiên cứu của Võ Thế Hiếu (2019) trên 96 bệnh nhân thalassemia có 10,42% bệnh nhân bị xơ gan, 5,21% bệnh nhân bị suy chức năng tim [9]; nghiên cứu của Soliman (2010) trên 40 trẻ em  $\beta$ -thalassemia thể nặng cho thấy 10% bệnh nhân suy tim và 2% có viêm gan [10].

Tác giả Koochi (2019) nghiên cứu trên 28,629 bệnh nhân thalassemia ở Đức cho thấy mặc dù được truyền máu và điều trị thải sắt thường xuyên thì tình trạng ứ đọng sắt ở tim hay các biến chứng tim mạch là khó tránh khỏi ở bệnh nhân  $\beta$ -thalassemia thể nặng [11]. Liên đoàn thalassemia quốc tế cũng ghi nhận nguyên nhân gây tử vong hàng đầu ở bệnh nhân thalassemia là các biến chứng tim do ứ sắt [6]. Do đó có thể thấy, việc giải quyết tình trạng ứ sắt vẫn còn là một vấn đề lớn trong điều trị bệnh lý thalassemia.

**4.2. Đặc điểm huyết học ở bệnh nhân  $\beta$ -thalassemia**

Các chỉ số huyết học trong nghiên cứu đặc hiệu ở bệnh nhân  $\beta$ -thalassemia, thể hiện tình trạng thiếu máu hồng cầu nhỏ nhược sắc bao gồm số lượng hồng cầu 3,7 ± 0,8 T/L, hemoglobin 7,5 ± 1,3 g/dL, thể tích trung bình hồng cầu và nồng độ hemoglobin hồng cầu lần lượt là 70,9 ± 8,4 fL và 20,6 ± 4,0 pg (Bảng 1).

Thành phần hemoglobin thay đổi phụ thuộc loại  $\beta$ -thalassemia.  $\beta^0$ -thalassemia đặc trưng bởi không tổng hợp được chuỗi  $\beta$ -globin,  $\beta^+$  sản xuất được khoảng 10% chuỗi  $\beta$ -globin và  $\beta^E$  đặc trưng bởi sự xuất hiện của HbE [12]. Trong khi đó, chuỗi  $\alpha$ -globin vẫn sản xuất bình thường, điều này làm kích thích sản xuất chuỗi  $\delta$ -globin và  $\gamma$ -globin. Các chuỗi  $\delta$ -globin và  $\gamma$ -globin sẽ kết hợp với  $\alpha$ -globin, do đó làm tăng lượng HbA<sub>2</sub> ( $\alpha\delta_2$ ) và HbF ( $\alpha_2\gamma_2$ ).

Trong nghiên cứu của chúng tôi, thành phần HbA trung bình 35,2 ± 33,9%. Các bệnh nhân

thể nặng có lượng HbA cao hơn bệnh nhân thể trung gian ( $p < 0,05$ ). Điều này có thể giải thích là do những bệnh nhân thể nặng phải truyền máu thường xuyên, cho nên kết quả này có thể bao gồm cả thành phần hemoglobin của người bệnh và máu được truyền trước đó. Các chỉ số HbA<sub>2</sub> và HbF tăng, lần lượt là  $6,1 \pm 2,7\%$  và  $24,8 \pm 18\%$  và gần bằng nhau ở cả hai thể bệnh. Chỉ số HbE là  $38,6 \pm 15,2\%$ , trong đó tỷ lệ HbE ở hai nhóm thể trung gian và thể nặng lần lượt là  $40,5 \pm 14,6\%$  và  $28,6 \pm 15,6\%$ , sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Nghiên cứu của Nguyễn Hoàng Nam (2019) trên 104 bệnh nhân  $\beta$ -thalassemia và HbE/ $\beta$ -thalassemia cho thấy thành phần HbA chiếm  $35,03 \pm 27,3\%$ , HbE chiếm  $40,32 \pm 17,3\%$  tương tự với kết quả của chúng tôi ( $p > 0,05$ ). Trong khi đó, thành phần HbF chiếm  $40,52 \pm 20,6\%$ , cao hơn kết quả của chúng tôi ( $p < 0,05$ ) [7]. Điều này có thể giải thích do tác giả Nguyễn Hoàng Nam nghiên cứu trên những bệnh nhân  $\beta$ -thalassemia thể nặng và trung gian với phần lớn là các bệnh nhân thể nặng, còn bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi chủ yếu thuộc thể trung gian. Nghiên cứu của Doro (2017) ở Miền Trung Việt Nam, trên bệnh nhân  $\beta$ -thalassemia thể nặng cho thấy thành phần HbA giảm, trung bình là  $68,4 \pm 28,8\%$ , HbF và HbE tăng lần lượt là  $17 \pm 21,3\%$  và  $22,9 \pm 16,7\%$  [2]. Kết quả này tương tự với các chỉ số trên bệnh nhân  $\beta$ -thalassemia thể nặng trong nghiên cứu của chúng tôi ( $p > 0,05$ ).

#### 4.3. Đặc điểm đột biến gene $\beta$ -globin và mối liên quan giữa kiểu gene $\beta$ -globin và mức độ bệnh $\beta$ -thalassemia

##### 4.3.1. Đặc điểm đột biến gene $\beta$ -globin

Cho đến nay, có hơn 350 đột biến gây bệnh  $\beta$ -thalassemia đã được công bố và phần lớn là đột biến điểm. Các đột biến được phân bố khác nhau tùy chủng tộc và vùng địa lý.

Nghiên cứu của chúng tôi phát hiện 9 đột biến gene  $\beta$ -globin, trong đó 3 loại đột biến phổ biến nhất chiếm đến 86,94% bao gồm đột biến cd 26 (G>A) HbE, cd 17 (A>T) và cds 41/42 (-TTCT) với tỷ lệ lần lượt là 47,7%, 28,03% và 11,21%. Sáu loại đột biến còn lại chiếm tỷ lệ thấp, trong đó đột biến cd 26 (C>T) là một đột biến hiếm gặp (Bảng 2). Nghiên cứu của Nguyễn Hoàng Nam (2019) tại miền Bắc và Nguyễn Khắc Hân Hoan (2013) ở miền Nam cũng ghi nhận ba đột biến cd 26 (G>A) HbE, cd 17 (A>T) và cds 41/42 (-TTCT) là phổ biến nhất. Các đột biến còn lại có tỷ lệ khác nhau giữa các vùng, như đột biến IVS-I-1 (G>T) ở miền Trung có tỷ lệ lưu hành cao hơn ở miền Nam và miền Bắc, trong khi đó đột biến IVS-I-5 (G>C) chỉ mới quan sát thấy ở miền Bắc [7, 13].

##### 4.3.2. Mối liên quan giữa kiểu gene $\beta$ -globin và mức độ bệnh $\beta$ -thalassemia

Bệnh sinh của thalassemia là do sự mất cân bằng các chuỗi globin và mức độ nghiêm trọng của bệnh phụ thuộc mức độ mất cân bằng đó. Do vậy, sự kết hợp đột biến  $\alpha$ -thalassemia có thể làm thay đổi kiểu hình của bệnh  $\beta$ -thalassemia. Tại Việt Nam, các nghiên cứu cho thấy tỷ lệ  $\alpha$ -thalassemia là khá cao, thậm chí gấp đôi so với  $\beta$ -thalassemia. Do đó, sự kết hợp giữa  $\alpha$ -thalassemia và  $\beta$ -thalassemia cũng chiếm một tỷ lệ không nhỏ. Nghiên cứu của Nguyễn Duy Thăng (2017) được thực hiện ở miền Trung cho thấy trong các trường hợp mang gene thalassemia thì có tới 51,93% đột biến  $\alpha$ -thalassemia, 44,57% đột biến  $\beta$ -thalassemia và 3,49% phối hợp đột biến  $\alpha$ - $\beta$  thalassemia [14].

Ở Bảng 3, chúng tôi trình bày kiểu gene  $\beta$ -globin của hai nhóm thể trung gian và thể nặng, có năm kiểu gene là  $\beta^0/\beta^A$ ,  $\beta^E/\beta^A$ ,  $\beta^E/\beta^+$ ,  $\beta^E/\beta^0$  và  $\beta^0/\beta^0$ . Trong đó, các bệnh nhân có kiểu gene  $\beta^E/\beta^A$  hoặc  $\beta^0/\beta^A$  đều thuộc thể trung gian. Những trường hợp dị hợp tử  $\beta$ -thalassemia này có thể kết hợp với các đột biến làm dư thừa gene  $\alpha$ -globin (thừa hai gene  $\alpha$ -globin như  $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\alpha$  hay  $\alpha\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha$  hoặc thừa một gene  $\alpha$ -globin như  $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha$ ). Khi có sự kết hợp các đột biến như trên thì sẽ làm tăng mức độ mất cân bằng chuỗi  $\alpha$ -globin và  $\beta$ -globin, từ đó dẫn đến tăng mức độ bệnh [15]. Ngoài ra, khi có sự phối hợp giữa kiểu gene của bệnh lý HbH và kiểu gene  $\beta^E/\beta^A$  có thể làm giảm mức độ nặng của bệnh lý  $\alpha$ -thalassemia, dẫn đến bệnh nhân có kiểu hình thuộc thể trung gian. Nghiên cứu của Prayalaw (2015) ở Thái Lan thực hiện trên 312 bệnh nhân thalassemia không phụ thuộc truyền máu cho thấy có tới 20,2% bệnh nhân có kiểu gene dị hợp tử  $\beta^E/\beta^A$  kết hợp với bệnh lý HbH [16].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, các bệnh nhân có kiểu gene  $\beta^E/\beta^+$  đều thuộc thể trung gian, không có bệnh nhân nào thuộc thể nặng. Trong khi đó, các bệnh nhân có kiểu gene  $\beta^E/\beta^0$  thì xuất hiện ở cả hai thể. Tuy rằng các bệnh nhân  $\beta^E/\beta^+$  và  $\beta^E/\beta^0$  đều có cả hai allele bị đột biến nhưng trong khi allele  $\beta^0$  hoàn toàn không sản xuất được chuỗi  $\beta$ -globin thì allele  $\beta^+$  vẫn còn sản xuất được 10% chuỗi  $\beta$ -globin bình thường [12]. Do đó, bệnh nhân có kiểu gene  $\beta^E/\beta^+$  có biểu hiện lâm sàng nhẹ hơn so với  $\beta^E/\beta^0$ . Nghiên cứu của Traivaree (2018) tại Thái Lan trên các bệnh nhân  $\beta$ -thalassemia cũng cho thấy các bệnh nhân mang kiểu gene  $\beta^E/\beta^+$  đều thuộc nhóm trung gian [17].

Nhóm bệnh nhân có kiểu gene  $\beta^E/\beta^0$  có biểu hiện khá phức tạp với 80,4% thuộc  $\beta$ -thalassemia thể trung gian và 19,6% thuộc  $\beta$ -thalassemia thể

nặng. Mức độ mất cân bằng giữa hai chuỗi globin là yếu tố chính quyết định độ nghiêm trọng của bệnh thalassemia. Các nghiên cứu cho thấy việc mất hai gene  $\alpha$ -globin có liên quan đến kiểu hình lâm sàng nhẹ hơn ở hầu hết bệnh nhân  $\beta$ -thalassemia; trong khi mất một gene  $\alpha$ -globin ở bệnh nhân mang kiểu gene  $\beta^0/\beta^0$  ít có tác dụng làm giảm nhẹ lâm sàng hơn so với các kiểu gene còn lại. Đáng chú ý là đối với các bệnh nhân mang kiểu gene HbE/ $\beta$ -thalassemia, sự kết hợp  $\alpha$ -thalassemia làm giảm đáng kể mức độ nặng trên lâm sàng ngay cả khi chỉ mất một gene  $\alpha$ -globin [18]. Ngoài ra, tăng sản xuất HbF cũng có thể làm giảm mức độ nghiêm trọng của bệnh  $\beta$ -thalassemia do làm giảm sự mất cân bằng chuỗi  $\alpha$ -globin và  $\beta$ -globin. Nhiều nghiên cứu cho thấy đa hình *XmnI* ở gene  $\gamma$ -globin và đa hình của gene *BCL11A* liên quan đến việc tăng tổng hợp HbF và làm giảm mức độ nặng ở bệnh nhân HbE/ $\beta$ -thalassemia [15].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, 100% bệnh nhân mang kiểu gene  $\beta^0/\beta^0$  đều thuộc nhóm  $\beta$ -thalassemia thể nặng. Kết quả này tương tự nghiên cứu Shoujaa (2019) cho thấy các bệnh nhân mang kiểu gene  $\beta^0/\beta^0$  đều phụ thuộc truyền máu [8].

#### 4.3.3. Mối liên quan giữa kiểu gene $\beta$ -globin với đặc điểm lâm sàng của bệnh nhân $\beta$ -thalassemia

Ở Bảng 4, bệnh nhân mang kiểu gene  $\beta^0/\beta^0$  có tuổi bắt đầu truyền máu sớm nhất và có tần suất truyền máu lên đến  $9,0 \pm 4,2$  lần trong một năm. Nguyên nhân là do các bệnh nhân mang kiểu gene  $\beta^0/\beta^0$  không thể tổng hợp được chuỗi  $\beta$ -globin, sự mất cân bằng giữa tỷ lệ chuỗi  $\alpha$  và non- $\alpha$ -globin lớn hơn các kiểu gene còn lại. Hai kiểu gene dị hợp tử  $\beta^E/\beta^A$  và  $\beta^0/\beta^A$  có tuổi bắt đầu truyền máu và tần suất truyền máu tương tự nhau, vì ở hai kiểu gene này

vẫn còn một allele  $\beta^A$  sản xuất chuỗi  $\beta$ -globin bình thường.

Đối với hai kiểu gene còn lại là  $\beta^E/\beta^0$  và  $\beta^E/\beta^+$  thì kiểu gene  $\beta^E/\beta^0$  có tuổi bắt đầu truyền máu sớm hơn và tần suất truyền máu nhiều hơn. Điều này là do  $\beta^0$  không sản xuất được chuỗi  $\beta$ -globin trong khi  $\beta^+$  vẫn có khả năng sản xuất được khoảng 10% chuỗi  $\beta$ -globin bình thường [12].

Kết quả của chúng tôi tương tự với kết quả của Nguyễn Hoàng Nam (2019) cho thấy tuổi bắt đầu truyền máu ở những bệnh nhân mang kiểu gene  $\beta^0/\beta^0$  là sớm nhất,  $1 \pm 0,4$  tuổi [7]. Nghiên cứu của Shoujaa (2020) cho thấy ở các kiểu gene  $\beta^0/\beta^0$ ,  $\beta^0/\beta^+$ ,  $\beta^+/beta^+$  tuổi truyền máu và tần suất truyền máu có sự khác biệt [8].

## 5. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu trên 57 bệnh nhân  $\beta$ -thalassemia, chúng tôi rút ra một số kết luận như sau:

5.1. 100% bệnh nhân có thiếu máu, 75,4% có lách to hoặc đã cắt, 50,9% gan to, 38,6% có bộ mặt thalassemia và 28,1% có biểu hiện vàng da và 15,8% quá tải sắt; Các chỉ số hồng cầu giảm: Hb  $7,5 \pm 1,3$  g/dL, MCV  $70,9 \pm 8,4$  fL, MCH  $20,5 \pm 2,1$  pg; Thành phần hemoglobin thay đổi: HbA giảm, HbA<sub>2</sub> và HbF tăng, xuất hiện HbE ở những bệnh nhân HbE/ $\beta$ -thalassemia.

5.2. 9 đột biến  $\beta$ -globin được xác định, trong đó 3 đột biến phổ biến nhất là cd 26 (G>A) HbE, cd 17 (A>T) và cds 41/42 (-TTCT). Kiểu gene phổ biến nhất là  $\beta^E/\beta^0$  chiếm 80,7%. Các kiểu gene  $\beta^0/\beta^A$ ,  $\beta^E/\beta^A$  và  $\beta^E/\beta^+$  chỉ gặp ở thể trung gian,  $\beta^0/\beta^0$  chỉ gặp ở bệnh nhân  $\beta$ -thalassemia thể nặng,  $\beta^E/\beta^0$  gặp ở cả hai thể. Có sự khác biệt về tuổi bắt đầu truyền máu giữa các kiểu gene, trong đó kiểu gene  $\beta^0/\beta^0$  là nặng nhất.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Galanello R, Cao A. Relationship between Genotype and Phenotype. Ann N Y Acad Sci. 1988;850:325–33.
2. Doro MG, Casu G, Frogheri L, Persico I, Triet LPM, Hoa PTT, et al. Molecular Characterization of  $\beta$ -Thalassemia Mutations in Central Vietnam. Vol. 41, Hemoglobin. 2017. p. 96–9.
3. Filon D, Oppenheim A, E.A. R, Kot R, Ba Truc D. Molecular analysis of  $\beta$ -thalassemia in Vietnam.pdf. Hemoglobin. 2000;24(2):99–104.
4. Le Thi Hao, Pissard S, Van PH, Lacombe C, Hanh TD, Goossens M, et al. Molecular analysis of  $\beta$ -thalassemia in south vietnam. Vol. 25, Hemoglobin. 2001. p. 305–9.
5. Bộ Y tế. Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh Hemophilia và bệnh Thalassemia, Quyết định số 921/QĐ-

BYT ngày 18/03/2014. 2014. p. 17–27.

6. Cappellini M, Cohen A, Eleftheriou A, Piga A, Porter J, Taher A. Guidelines for the clinical management of thalassemia- Bản Tiếng Việt. Hội Huyết học Truyền máu Việt Nam; 2008.
7. Nguyễn Hoàng Nam. Nghiên cứu kiểu hình và kiểu gene ở bệnh nhi beta thalassemia. Đại học Y Hà Nội; 2019.
8. Shoujaa A, Moasses F, Mukhalalaty Y, Murad H, Al-Quobaili F. Genotype/Phenotype Correlation of  $\beta$ -Thalassemia in Syrian Patients: A Cross-Sectional Study. Vol. 44, Hemoglobin. 2020. p. 42–6.
9. Võ Thế Hiếu, Tôn Thất Minh Trí, Phạm Thị Ngọc Phương, Nguyễn Thanh Sơn và Lê Thị Thanh Hoa. Tình hình chăm sóc và điều trị bệnh thalassemia tại Khoa huyết

học lâm sàng - Bệnh viện Trung ương Huế. Tạp chí Y học TP Hồ Chí Minh. 2019;6:305-9.

10. Soliman OE, Yahia S, Shouma A, Shafiek HK, Fouda AE, Azzam H, et al. Reverse hybridization StripAssay detection of  $\beta$ -thalassemia mutations in northeast Egypt. *Hematology*. 2010;15(3):182-6.

11. Koohi F, Kazemi T, Miri-Moghaddam E. Cardiac complications and iron overload in beta thalassemia major patients—a systematic review and meta-analysis. *Ann Hematol*. 2019;98(6):1323-31.

12. Hassan T, Badr M, Safy U, Hesham M, Sherief L, Zakaria M.  $\beta$ -Thalassemia: Genotypes and Phenotypes. In: *Epidemiology of Communicable and Non-Communicable Diseases, Attributes of Lifestyle and Nature on Humankind*. 2016. p. 113.

13. Nguyễn Khắc Hân Hoan. Nghiên cứu tầm soát và chẩn đoán trước sinh bệnh alpha và beta thalassemia. Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh; 2013.

14. Nguyễn Duy Thăng, Đồng Sĩ Sảng, Phan Thị Thùy Hoa. Nghiên cứu kỹ năng sàng lọc và chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia tại tỉnh Thừa Thiên Huế. 2017.

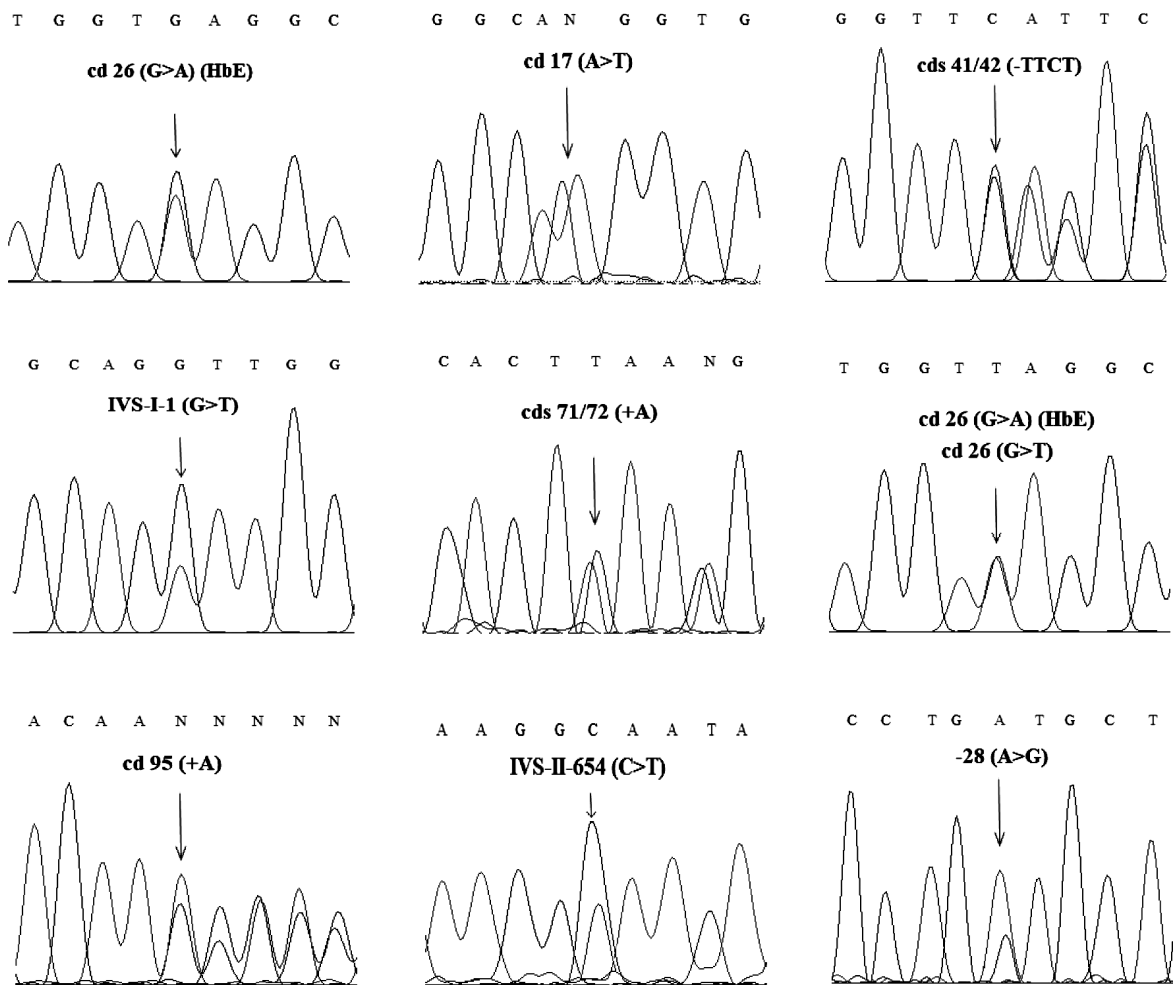
15. Thein SL. Genetic insights into the clinical diversity of  $\beta$  thalassaemia. *Br J Haematol*. 2004;124(3):264-74.

16. Prayalaw P, Teawtrakul N, Jetsrisuparb A, Pongudom S, Fucharoen G, Fucharoen S. Phenotype and Genotype in a Cohort of 312 Adult Patients with Nontransfusion-Dependent Thalassemia in Northeast Thailand. *Acta Haematol*. 2015;135(1):15-20.

17. Traivaree C, Monsereenusorn C, Rujkijyanont P, Prasertsin W, Boonyawat B. Genotype-phenotype correlation among betathalassemia and beta-thalassemia/HbE disease in Thai children: Predictable clinical spectrum using genotypic analysis. *J Blood Med*. 2018;9:35-41.

18. Mettananda S, Gibbons RJ, Higgs DR. A-Globin As a Molecular Target in the Treatment of B-Thalassemia. *Blood*. 2015;125(24):3694-701.

**PHỤ LỤC**



**Kết quả giải trình tự gene  $\beta$ -globin**