

PHÁT HIỆN NGƯỜI LÀNH MANG GEN THALASSEMIA Ở ĐỐI TƯỢNG KIỂM TRA TRƯỚC KẾT HÔN, TRƯỚC MANG THAI VÀ TRƯỚC SINH BẰNG GIẢI TRÌNH TỰ THỂ HỆ MỚI VÀ GAP-PCR

Đào Thị Trang^{1,2,✉}, Phạm Thị Ngọc Ánh¹, Vũ Thị Thu Hà¹
Hoàng Thị Ngọc Lan^{1,2}, Nguyễn Thị Minh Ngọc²
Nguyễn Hữu Đức Anh¹, Nguyễn Thị Hào³, Lê Thảo Ly⁴, Vũ Thị Hà¹
Vũ Thị Huyền¹, Đoàn Thị Kim Phượng^{1,2}, Trần Đức Phần²
Hoàng Thu Lan^{1,2}, Nguyễn Thị Trang¹, Lương Thị Lan Anh^{1,2}

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện Đại học Y Hà Nội

³Bệnh viện Sản Nhi Nghệ An

⁴Bệnh viện Sản Nhi Quảng Ninh

Thalassemia là bệnh di truyền lặn phổ biến tại Việt Nam. Xác định sớm người lành mang gen bệnh thalassemia, tư vấn trước sinh giúp hạn chế sinh con mắc thalassemia thể trung bình - nặng. Nghiên cứu mô tả cắt ngang với mục tiêu xác định tỉ lệ người lành mang gen và mô tả các biến thể gây bệnh trên đồng thời hai gen HBA, HBB dựa trên hồi cứu kết quả xét nghiệm gen thalassemia sử dụng phương pháp giải trình tự thế hệ mới (Next Generation Sequencing-NGS) và gap-PCR của 764 đối tượng đến kiểm tra trước hôn nhân, trước mang thai và trước sinh tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội từ 2/2023 đến 10/2023. Tỉ lệ người lành mang gen là 18,1%, trong đó mang gen HBA, HBB, cả HBA và HBB lần lượt là 11,8%, 5,0% và 1,3%. Các biến thể được phát hiện trên gen HBA (n = 100) gồm: SEA (70,0%), $\alpha 3.7$ (20,0%), còn lại gồm SEA + $\alpha 3.7$, $\alpha 4.2$, HbCS và THAI. Các biến thể phát hiện trên gen HBB (n = 48) là CD26 (50%), CD41/42 (27,1%), CD17 (16,7%), -28A>G (4,2%), CD71/72 (2,1%). NGS và gap-PCR có thể giúp tăng tỷ lệ phát hiện các biến thể một alen của gen HBA, cũng như hạn chế bỏ sót các trường hợp mang đồng thời cả gen alpha và beta thalassemia.

Từ khóa: Sàng lọc người lành mang gen thalassemia, giải trình tự thế hệ mới, gap-PCR, tư vấn trước sinh.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh tan máu bẩm sinh (Thalassemia) là bệnh đơn gen di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường phổ biến nhất trên thế giới, với khoảng 7% dân số mang gen bệnh.¹ Việt Nam là nước có tỷ lệ mắc bệnh cao, 20.000 người bị Thalassemia thể nặng và mỗi năm có khoảng

trên 2.000 trẻ sinh ra bị mắc Thalassemia, khoảng 10% dân số mang gen bệnh. Nguyên nhân gây bệnh là do đột biến gen làm giảm hoặc không tổng hợp được chuỗi globin tạo nên bất thường về huyết sắc tố (HST) và thành phần các loại HST, gây ra tình trạng thiếu máu tan máu mạn tính và nhiều biến chứng nguy hiểm cho người bệnh.

Xác định sớm người mang gen bệnh sẽ giúp tư vấn về khả năng sinh con bị bệnh và các biện pháp hạn chế là cần thiết.² Hiện nay, có nhiều phương pháp sàng lọc, chẩn đoán người

Tác giả liên hệ: Đào Thị Trang

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: trangdao@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 23/07/2024

Ngày được chấp nhận: 07/08/2024

mang gen/người bệnh thalassemia. Trong đó, xét nghiệm tổng phân tích máu ngoại vi (dựa vào MCV < 85fl và/hoặc MCH < 28pg) bước 1, theo sau là điện di HST (giúp định hướng nhóm bệnh alpha và/hoặc beta thalassemia, phát hiện một số hemoglobin bất thường như HbE, HbS...), được sử dụng rộng rãi, độ nhạy >80 - 85% cho các biến thể gen *HBB* hoặc mất đoạn hai gen *HBA* với giá thành dễ tiếp cận.³ Tuy nhiên, phương pháp sàng lọc qua từng bước này có thể làm tăng thời gian chờ đợi, số lần lấy máu, cũng như khả năng bỏ sót biến thể ít/không gây ảnh hưởng tới các chỉ số huyết học (MCV, MCH).^{4,5} Các xét nghiệm di truyền phân tử giúp xác định các biến thể cụ thể, trong đó kỹ thuật Gap-PCR giúp phát hiện chính xác các biến thể mất đoạn phổ biến của gen *HBA*, và giải trình tự thế hệ mới (Next Generation Sequencing - NGS) giúp phát hiện các đột biến điểm (không chỉ khu trú vào các biến thể thường gặp) trên hai gen *HBB* và *HBA*. Một số nghiên cứu cũng cho thấy NGS có thể sàng lọc các biến thể mất đoạn phổ biến của gen *HBA* với độ nhạy cao khi sử dụng thêm các công cụ tin sinh học.^{6,7} Hiện nay, chưa có nhiều nghiên cứu tại Việt Nam ứng dụng kết hợp NGS và gap-PCR trong việc phát hiện kiểu gen thalassemia. Do đó, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm xác định tỉ lệ người lành mang gen và mô tả các biến thể gây bệnh trên đồng thời hai gen *HBA*, *HBB* ở đối tượng đến kiểm tra trước hôn nhân, trước mang thai và trước sinh bằng phương pháp giải trình tự thế hệ mới kết hợp với Gap-PCR.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Đối tượng: Kết quả xét nghiệm gen *HBA*, *HBB* của 764 người đến kiểm tra tình trạng mang gen Thalassemia trước kết hôn/trước mang thai/trước sinh từ tháng 2/2023 đến

tháng 10/2023 tại Trung tâm Di truyền lâm sàng - Bệnh viện Đại học Y Hà Nội.

Tiêu chuẩn lựa chọn

+ Hồ sơ (Phiếu thông tin người thực hiện xét nghiệm) của người đến làm xét nghiệm gen có đầy đủ thông tin bao gồm lý do đến xét nghiệm/tư vấn, bệnh sử, tiền sử.

+ Mẫu bệnh phẩm: 2mL máu ngoại vi, chống đông EDTA.

+ Có đủ kết quả kiểm tra biến thể gây bệnh của cả hai gen *HBA* và *HBB* bằng phương pháp NGS kết hợp với Gap-PCR.

Phạm vi khảo sát của xét nghiệm được sử dụng:

- Gap-PCR phát hiện 4 mất đoạn lớn trên gen *HBA* bao gồm --SEA, - α 3.7, - α 4.2, --THAI và các biến thể điểm trên vùng mã hóa.

- NGS: phát hiện các biến thể điểm trên vùng mã hóa của gen *HBA*, *HBB* và 4 biến thể vùng intron trên gen *HBB*, phổ biến ở Việt Nam bao gồm IVS1-1G>A, IVS1-1G>T, IVS1-5G>C, IVS2-654G>C.

Tiêu chuẩn loại trừ

+ Hồ sơ bệnh án thiếu thông tin hoặc không có đủ kết quả của hai gen *HBA*, *HBB*.

+ Xét nghiệm gen *HBA*, *HBB* bằng mẫu bệnh phẩm khác: dịch ối, tế bào gai rau...

+ Xét nghiệm gen *HBA*, *HBB* bằng kỹ thuật xét nghiệm khác, không sử dụng NGS kết hợp với Gap-PCR.

2. Phương pháp

Thiết kế nghiên cứu: Hồi cứu, mô tả cắt ngang.

Xử lý số liệu

+ Xử lý số liệu theo chương trình Minitab 21.4.2.

+ Các số liệu định tính được biểu hiện dưới dạng tỷ lệ %.

+ Các số liệu định lượng được biểu hiện dưới dạng trung bình \pm SD.

- Địa điểm nghiên cứu: Trung tâm Di truyền

lâm sàng - Bệnh viện Đại học Y Hà Nội.

3. Đạo đức nghiên cứu

- Các thông tin cá nhân của đối tượng nghiên cứu được mã hóa và bảo mật, phục vụ cho mục tiêu nghiên cứu được đặt ra.

III. KẾT QUẢ

1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Tuổi trung bình trong nghiên cứu là $31,0 \pm 6,9$. Nhóm tuổi 18 - 40 chiếm tỉ lệ cao nhất với 88,7%, đây cũng là nhóm trong độ tuổi sinh đẻ. Nhóm tuổi trên 40 và dưới 18 chiếm tỉ lệ lần lượt là 9,2% và 2,1%.

Phần lớn người tham gia xét nghiệm là nữ giới bao gồm thai phụ và người đến kiểm tra trước mang thai, chiếm tỉ lệ 80,2% (613/764).

Nam giới chiếm tỉ lệ 19,8% (151/764). Đối tượng nghiên cứu được phân tầng theo lý do tới tư vấn làm xét nghiệm, bao gồm: Nhóm nguy cơ thấp/nguy cơ chưa xác định (có 658/764 người, chiếm tỉ lệ 86,1%) bao gồm các nhóm lý do kiểm tra sau đây: Kiểm tra tình trạng mang các biến thể gây bệnh trên 9 gen bệnh (*HBA, HBB, GALT, GAA, ATP7B, SRD5A2, SL25A13, PAH, G6PD*) di truyền lặn tích hợp trong NIPT (66,8%), kiểm tra trước kết hôn/trước mang thai (13%), kiểm tra bệnh di truyền khác (6,3%); Nhóm nguy cơ cao (công thức máu (CTM)/ điện di HST nghi ngờ hoặc có người trong gia đình mang gen hoặc nghi ngờ mang gen thalassemia) có 106 người, chiếm tỉ lệ 13,9%.

2. Tỉ lệ mang gen thalassemia của đối tượng nghiên cứu

Bảng 1. Tỉ lệ mang gen thalassemia

	Kết quả xét nghiệm gen		Tỉ lệ (%)
	Thể thalassemia	Số ca (n, %)	(n = 764)
Dương tính (n = 138; 18,1%)	α -thalassemia	90 (65,2)	11,8
	β -thalassemia	38 (27,5)	5,0
	α và β thalassemia kết hợp	10 (7,3)	1,3
Âm tính		626	81,9
Tổng		764	100

Tỉ lệ mang gen thalassemia trong nghiên cứu là 18,1% (138/764). Trong đó, tỷ lệ mang gen α -thalassemia là cao nhất với 11,8%, sau đó là

người mang gen β -thalassemia chiếm 5,0%, và 1,3% là tỷ lệ người mang đồng thời biến thể gen α và β thalassemia có tỷ lệ thấp nhất.

Bảng 2. Tỉ lệ mang gen thalassemia theo nhóm nguy cơ

Nhóm	Nhóm nguy cơ thấp/chưa xác định (n = 658)		Nhóm nguy cơ cao (n = 106)	
	Dương tính	Âm tính	Dương tính	Âm tính
α và/hoặc β thalassemia	74 (11,2%)	584 (88,8%)	64 (60,4%)	42 (39,6%)
α -thalassemia	51 (7,8%)	607 (92,2%)	49 (46,2%)	57 (53,8%)
β -thalassemia	29 (4,4%)	629 (95,6%)	19 (17,9%)	87 (82,1%)

Tỷ lệ phát hiện đột biến gen *HBA*, *HBB* ở nhóm nguy cơ cao (bao gồm những trường hợp có công thức máu (CTM)/ điện di HST nguy cơ cao mang gen thalassemia hoặc có người trong gia đình mang gen thalassemia/ nghi ngờ mang gen thalassemia) cao hơn nhiều so với nhóm

nguy cơ thấp/chưa xác định (bao gồm nhóm đối tượng không có tiền sử gia đình/bản thân gợi ý mang gen thalassemia), là 60,4% so với 11,3%. Xét theo nhóm mang gen *HBA* hoặc *HBB* tỷ lệ phát hiện tình trạng mang gen ở nhóm nguy cơ cao cũng cao hơn nhiều so với nhóm còn lại.

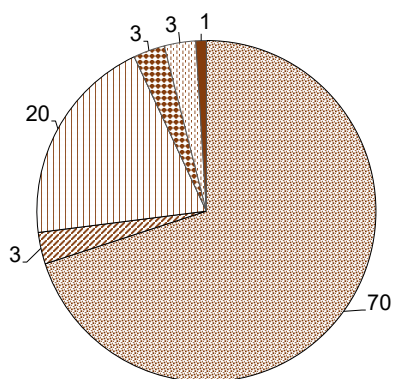
Bảng 3. Tỷ lệ mang gen thalassemia ở cặp đôi/cặp vợ chồng kiểm tra tình trạng mang gen đồng thời

Kết quả xét nghiệm	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Cả 2 cùng dương tính với <i>HBA</i>	8	13,8
Cả 2 cùng dương tính với <i>HBB</i>	2	3,5
Cả 2 dương tính nhưng khác gen	4	6,9
Chỉ một người dương tính	18	31,0
Cả 2 âm tính	26	44,8
Tổng	58	100

Trong tổng số 764 trường hợp có 58 cặp đôi (cặp nam nữ đến kiểm tra trước kết hôn/cặp vợ chồng) đồng thời kiểm tra tình trạng mang gen *HBA*, *HBB*, chiếm 7,6%. Ghi nhận 10 cặp vợ chồng có biến thể gây bệnh (dương tính) trên cùng gen, chiếm 17,2%. Các trường hợp này

đều có tiền sử gợi ý (như phù thai, có con mang gen thalassemia hoặc CTM nghi ngờ). Phần lớn các trường hợp cho các kết quả không đòi hỏi tư vấn chẩn đoán trước sinh.

3. Mô tả các biến thể trên gen *HBA*, *HBB* được phát hiện bằng NGS và gap-PCR

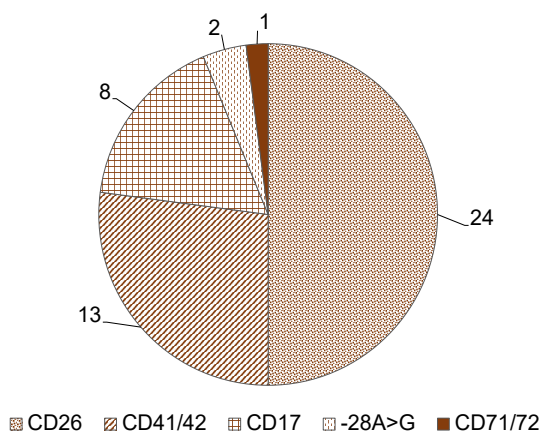


■ SEA ■ SEA + α3.7 □ α3.7 ■ α4.2 ■ HbCs ■ THAI

Biểu đồ 1. Phân bố các biến thể gây bệnh được phát hiện trong nhóm mang gen *HBA*

Có 5 biến thể khác nhau gặp ở 100 người mang gen α-thalassemia. Trong đó biến thể --SEA hay gặp nhất với 70 người, chiếm tỷ lệ 70,0%, tiếp theo là biến thể -3.7 với 20 trường

hợp, chiếm tỷ lệ 20,0%. Các biến thể -4.2, HbCs và --THAI ít gặp với tỷ lệ lần lượt là 3,0%; 3,0% và 1,0%. Có 3 người mang đồng thời hai biến thể --SEA và -3.7.



Biểu đồ 2. Phân bố biến thể gây bệnh được phát hiện trong nhóm mang gen *HBB*

Có 5 biến thể khác nhau gặp ở 48 người mang gen β - thalassemia. Trong đó, biến thể CD26 hay gặp nhất với 24 người dương tính, chiếm tỉ lệ 50,0%, tiếp theo là biến thể CD41/42 với 13 người, chiếm tỉ lệ 27,1% và biến thể CD17 với 8 người dương tính, chiếm tỉ lệ 16,7%. Các biến thể -28A>G và CD71/72 ít gặp với tỉ lệ lần lượt là 4,2% và 2,1%.

IV. BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu này, người tham gia xét nghiệm gen chủ yếu là nữ giới (chiếm 80,2%), trong đó thai phụ đến thực hiện NIPT và được tích hợp kiểm tra các biến thể gây bệnh trên 9 gen bệnh di truyền lặn chiếm 66,8%. Đây cũng là nhóm đối tượng chiếm phần lớn trong các nghiên cứu khảo sát tỉ lệ mang gen thalassemia đã được thực hiện.^{26,27} Phát hiện tình trạng mang gen thalassemia cho thai phụ (trên DNA tự do/cell-free DNA) trong quý 1 thai kỳ tích hợp trong xét nghiệm sàng lọc trước sinh không xâm lấn (NIPT), giúp xác định sớm những trường hợp cần kiểm tra tình trạng mang gen cho người chồng, từ đó phát hiện những thai kỳ cần chẩn đoán trước sinh bằng chọc ối/sinh thiết gai rau.^{6,7} Việc chẩn đoán sớm thai nhi mắc bệnh thalassemia thể trung bình - nặng giúp gia đình có được sự tư vấn di truyền kịp thời và quyết định quản lý thai phù hợp, hạn

chế tối đa các biến chứng cho mẹ (như tiền sản giật ở các thai phụ mang thai Hb Bart's bị phủ thai trong thể bệnh alpha thalassemia) và trẻ sau sinh.

Nhóm đối tượng đến kiểm tra trước kết hôn/trước mang thai chiếm tỉ lệ 13,0%, cho thấy nhận thức của người dân trong chủ động tầm soát tình trạng mang gen thalassemia đang được cải thiện dần. Thalassemia là bệnh khó điều trị nhưng có thể dự phòng được. Việc tầm soát tình trạng mang gen bệnh trước kết hôn và trước khi mang thai sẽ giúp cung cấp thêm cho các cặp đôi về lựa chọn phương pháp xét nghiệm di truyền trước làm tổ (PGT-M), hạn chế được nguy cơ mang thai/sinh con bị bệnh thalassemia.

Tỉ lệ phát hiện người mang gen thalassemia của các đối tượng trong nghiên cứu này là 18,1%, cao hơn so với các kết quả nghiên cứu trước đó tại Việt Nam là 9,8% - 13,8%.^{8,9} Tỷ lệ mang gen khác nhau giữa các nghiên cứu có thể liên quan tới địa dư, dân tộc của người tham gia nghiên cứu cũng như các phương pháp sàng lọc (tổng phân tích tế bào máu ngoại vi, điện di HST) và xét nghiệm gen phát hiện các biến thể gây bệnh được áp dụng. Các nghiên cứu trước đây thường sử dụng sàng lọc 3 bước hoặc 2 bước, bước đầu thực hiện CTM (có thể kèm định lượng sắt, ferritin huyết thanh để loại

trừ kèm theo thiếu máu thiếu sắt), nếu gợi ý nguy cơ cao mang gen, người bệnh sẽ thực hiện điện di HST (một số trường hợp làm đồng thời tổng phân tích tế bào máu và điện di HST) giúp định hướng nhóm bệnh alpha thalassemia (HbA2 thường giảm hoặc bình thường) và beta thalassemia (HbA2 thường tăng) hoặc phát hiện các HST bất thường như HbE, HbS... Sau đó, xét nghiệm gen sẽ được lựa chọn tương ứng để xác định biến thể gây bệnh, như Multiplex PCR, Gap-PCR hoặc giải trình tự Sanger/NGS trên gen *HBA* và/hoặc *HBB*. Cách tiếp cận này có thể bỏ sót những người mang biến thể ảnh hưởng tới một alen alpha (như -3.7, -4.2), mang gen HST E, hoặc mang đồng thời biến thể gen *HBA*, *HBB* (trong trường hợp chỉ xét nghiệm một gen). Trong nghiên cứu này, tỷ lệ biến thể -3.7 chiếm 20% các trường hợp mang gen alpha thalassemia, cao hơn so với một số nghiên cứu tại Việt Nam và Trung Quốc, gặp với tỷ lệ từ 3,6%-14,86%.^{4,10,11} So sánh với nghiên cứu tình trạng mang gen thalassemia của Jianghong Zhao và cộng sự (2020) trên 944 cặp thai phụ và chồng tại Trung Quốc bằng phương pháp reverse dot blot (RDB), Gap-PCR kết hợp với NGS, kết quả nghiên cứu của chúng tôi khá tương đồng về tỷ lệ mang gen thalassemia, tuy nhiên đối với tỷ lệ mang kết hợp hai loại α và β -thalassemia, nghiên cứu này cho tỷ lệ là 0,4% thấp hơn so với nghiên cứu của chúng tôi là 1,3%, chiếm 7,3% trong số các trường hợp mang gen thalassemia.¹² Như vậy, sử dụng kết hợp gap-PCR và NGS làm xét nghiệm gen cho những trường hợp trước kết hôn/trước mang thai/trước sinh có thể giúp làm tăng khả năng phát hiện người lành mang gen, đặc biệt là đối với biến thể mất đoạn 1 alen của gen *HBA*, hoặc trường hợp mang đồng thời biến thể gây bệnh trên gen *HBA* và *HBB*.

Có sự chênh lệch đáng kể về tỷ lệ dương tính giữa 2 nhóm nguy cơ cao (phân tầng dựa

trên CTM, điện di HST và tiền sử gia đình) và nguy cơ thấp/nguy cơ chưa xác định (không có tiền sử gia đình hoặc CTM/điện di HST gợi ý trước đó), trong cả ba kết quả so sánh về tỷ lệ mang gen thalassemia chung, tỷ lệ mang gen α -thalassemia và β -thalassemia. Điều đó cho thấy việc phân nhóm nguy cơ qua sàng lọc bước đầu bằng CTM, điện di HST, khai thác tiền sử gia đình của các đối tượng đến xét nghiệm để tư vấn thực hiện xét nghiệm gen thalassemia sẽ rất có ý nghĩa trong bối cảnh điều kiện chi trả phí xét nghiệm còn hạn chế. Tuy nhiên, cũng cần thận trọng khi một số người có kết quả CTM, điện di HST bình thường nhưng vẫn mang đột biến gen alpha hoặc beta thalassemia, như trong nghiên cứu của Phạm Văn Hùng và cộng sự (2022) đã phát hiện các đột biến nhẹ α^+ , HbCs và β^E có thể có chỉ số MCV và MCH trong giới hạn bình thường (MCV > 85 f/l và MCH > 28pg).¹¹ Điều này cần lưu ý vì người mang gen β^E kết hôn cùng người mang gen β^0 có thể sinh con mắc beta/E-thalassemia hoặc kết hợp HbCs với biến thể α^0 gây thiếu máu tan máu mức độ trung bình-nặng. Bên cạnh đó, phối hợp đối chiếu CTM, điện di HST để giảm thiểu các trường hợp mang các biến thể *HBA*, *HBB* hiếm gặp (như mất/lặp exon trên gen) ngoài phạm vi khảo sát của NGS và gap-PCR.¹³

Khi phân tích tỷ lệ mang gen chung của 58 cặp đôi cho kết quả có 8 cặp cả hai người cùng mang biến thể trên gen α -thalassemia chiếm tỷ lệ 13,8%, 2 cặp cả hai người cùng mang biến thể gen β -thalassemia chiếm tỷ lệ 3,45%. Tuy số lượng cặp đôi nghiên cứu chưa đủ lớn nhưng tỷ lệ này khá tương đồng với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Bá Tùng trên 1292 cặp vợ chồng đến sàng lọc trước sinh tại bệnh viện Phụ sản Trung ương từ năm 2012 - 2022, theo đó tỷ lệ cả hai vợ chồng cùng mang gen α -thalassemia là 16,25%, β -thalassemia là 1,5%.¹⁴ Trong

8 cặp cả hai người cùng mang biến thể gen α -thalassemia, có 5 cặp mang trùng loại biến thể, tất cả đều là biến thể SEA. Trong 5 cặp vợ chồng này, chúng tôi ghi nhận 4 trường hợp có tiền sử phù thai, và 1 trường hợp sinh con nghi ngờ mang gen thalassemia chưa được làm xét nghiệm gen. Có 2 cặp vợ chồng cùng mang biến thể gen β -thalassemia (1 cặp mang trùng biến thể CD17 có tiền sử sinh 1 con β -thalassemia thể nặng truyền máu định kỳ và 1 cặp mang trùng biến thể CD26 chưa có tiền sử thai sản, đi làm xét nghiệm gen vì cả hai người có CTM nghi ngờ). Như vậy, hầu hết các trường hợp cùng mang biến thể trên gen *HBA*, *HBB* được phát hiện có tiền sử gia đình hoặc CTM gợi ý. Những trường hợp còn lại không phát hiện các cặp đôi/cặp vợ chồng “trùng gen” thalassemia. Điều này gợi ý việc sàng lọc, phát hiện người lành mang gen cho các trường hợp không ở nhóm nguy cơ cao, có thể thực hiện cho một trong hai người trước, nếu dương tính có thể làm cho người phối ngẫu sau, từ đó, giúp tiết kiệm chi phí.

Trong các đột biến trên gen *HBA* thì --SEA là phổ biến nhất (chiếm 70%), tương đồng với kết quả nghiên cứu của nhiều tác giả trong nước và nước ngoài.^{15,8,12} Phổ biến tiếp theo đó là biến thể $\alpha 3.7$ (20%), các biến thể $\alpha 4.2$ và HbCs chiếm tỉ lệ ít hơn là 3%, biến thể --THAI ghi nhận 1 trường hợp. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu tại Trung Quốc, sử dụng phương pháp Gap-PCR kết hợp với NGS, theo đó biến thể α -thalassemia phổ biến nhất là --SEA (67,87%), các biến thể $\alpha 3.7$, $\alpha 4.2$ gặp với tỉ lệ lần lượt là 14,86%; 4,42%. Có 3 trường hợp người mang kết hợp 2 loại biến thể SEA và $\alpha 3.7$, chiếm tỉ lệ 3%, kết quả này tương tự với kết quả của Haoqing Zhang và cộng sự với tỉ lệ là 3,41%.¹⁶ Bệnh nhân kết hợp hai dạng biến thể này biểu hiện kiểu hình là bệnh HbH, thiếu máu nhẹ và không phụ thuộc truyền máu,

có thể phát hiện tinh cờ qua sàng lọc người mang gen trước sinh, giúp tư vấn khám và theo dõi chuyên khoa huyết học. Về phân bố các biến thể gen *HBB* của đối tượng nghiên cứu, chúng tôi phát hiện 3 biến thể phổ biến nhất là CD26 (chiếm 50,0%), CD41/42 (chiếm 27,1%), CD17 (chiếm 16,7%). Các biến thể ít gặp hơn là CD71/72 và -28A>G với tỉ lệ lần lượt là 2,1% và 4,2%. Kết quả này có điểm khá tương đồng so với nghiên cứu trước đây tại Việt Nam.^{6,10} Trong nghiên cứu của chúng tôi, chưa phát hiện biến thể hiếm gặp trên gen *HBA* và *HBB* bằng NGS, ghi nhận một trường hợp phát hiện biến thể mất đoạn hiếm gặp trên gen *HBA* (đột biến --THAI) bằng gap-PCR. Cần cỡ mẫu lớn hơn để đánh giá khả năng phát hiện các biến thể hiếm gặp bằng kỹ thuật NGS.

V. KẾT LUẬN

Tỉ lệ người mang gen thalassemia là 18,1%, cao hơn so với các nghiên cứu trước đây tại Việt Nam, gợi ý kỹ thuật NGS kết hợp gap-PCR có thể giúp tăng phát hiện các biến thể ảnh hưởng tới một alen của gen *HBA*, biến thể mất đoạn hiếm gặp --THAI, cũng như hạn chế bỏ sót các trường hợp mang đồng thời cả gen alpha và beta thalassemia. Phát hiện năm đột biến trên gen *HBA*: --SEA (phổ biến nhất, chiếm 70,0%), -3.7 (20,0%), -4.2, --THAI, HbCs. Phát hiện năm đột biến trên gen *HBB*: CD26, CD17, CD41/42, CD71/72 và -28A>G; trong đó ba biến thể phổ biến nhất là CD26 (50,0%), CD41/42 (27,1%) và CD17 (16,7%). Chưa phát hiện biến thể hiếm trên gen *HBA*, *HBB* bằng NGS trong nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Thalassemia International Federation. Annual report 2013. <https://thalassaemia.org.cy/download/2013-annual-report/>
2. Trần Thu Thủy. Xác định người mang gen

bệnh để dự phòng Thalassemia, Hà Nội. 2014.

3. Nguyễn Minh Trí, Phạm Thị Nhung, Nguyễn Thị Hồng Nhiên, và cs. Nghiên cứu đặc điểm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi và điện di hemoglobin các thể beta-thalassemia tại Bệnh viện Huyết học - truyền máu Cần Thơ năm 2021 - 2022. *Tạp chí Y Dược học Cần Thơ*. 2023;(62):172-179. doi:10.58490/ctump.2023i62.1508

4. Yang T, Luo X, Liu Y, et al. Next-generation sequencing analysis of the molecular spectrum of thalassemia in Southern Jiangxi, China. *Hum Genomics*. 2023;17(1):77. doi:10.1186/s40246-023-00520-5

5. Vijian D, Wan Ab Rahman WS, Ponnuraj KT, et al. Gene Mutation Spectrum among Alpha-Thalassaemia Patients in Northeast Peninsular Malaysia. *Diagnostics*. 2023;13(5):894. doi:10.3390/diagnostics13050894

6. Lam TT, Nguyen DT, Le QT, et al. Combined Gap-Polymerase Chain Reaction and Targeted Next-Generation Sequencing Improve α - and β -Thalassemia Carrier Screening in Pregnant Women in Vietnam. *Hemoglobin*. 2022;46(4):233-239. doi:10.1080/03630269.2022.2096461

7. Doan PL, Nguyen DA, Le QT, et al. Detection of maternal carriers of common α -thalassemia deletions from cell-free DNA. *Sci Rep*. 2022;12(1):13581. doi:10.1038/s41598-022-17718-7

8. Bạch Quốc Khánh, Nguyễn Thị Thu Hà, Ngô Huy Minh, và cs. Thực trạng mang gen bệnh Thalassemia của học sinh dân tộc Kinh tại một số tỉnh và thành phố năm 2017. *Tạp chí Y học Việt Nam*. 2019

9. Nguyễn Thị Thu Hà, Nguyễn Triệu Vân, Ngô Mạnh Quân, và cs. Tổng quan thalassemia, thực trạng, nguy cơ và giải pháp kiểm soát bệnh thalassemia ở Việt Nam. *Tạp chí Y học Việt Nam*. 2021;502 (Số chuyên đề):3-16.

10. Hoàng Thị Ngọc Lan, Trần Văn Quỳnh, Nguyễn Văn Anh, và cs. Giá trị của MCV, MCH trong sàng lọc bệnh α -Thalassemia của các thai phụ tại Trung tâm Chẩn đoán trước sinh - Bệnh viện Phụ sản trung ương. *Tạp chí Phụ sản*. 2019;16(3):28-34. doi:10.46755/vjog.2019.3.1068

11. Phạm Văn Hùng, Đoàn Hữu Thiển, Nguyễn Thị Kiều. Đặc điểm cận lâm sàng của bệnh nhân thalassemia đến khám tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội. *Tạp chí Y học Việt Nam*. 2022;515(1). doi:10.51298/vmj.v515i1.2661

12. Zhao J, Li J, Lai Q, et al. Combined use of gap-PCR and next-generation sequencing improves thalassaemia carrier screening among premarital adults in China. *J Clin Pathol*. 2020;73(8):488-492. doi:10.1136/jclinpath-2019-206339

13. Vương Vũ Việt Hà, Hoàng Thị Hải, Lê Thị Phương, và cs. Xác định người lành mang biến thể gen gây bệnh β -thalassemia bằng kỹ thuật giải trình tự gen sanger và kỹ thuật MLPA. *Tạp chí Nghiên cứu Y học*. 2023;165(4):1-9. doi:10.52852/tcncyh.v165i4.1502

14. Nguyễn Bá Tùng. Dịch tễ lâm sàng, biến thể gen Thalassemia gây tan máu bẩm sinh ở các cặp vợ chồng đến khám tại bệnh viện Phụ sản Trung ương và kết quả ứng dụng trí tuệ nhân tạo trong sàng lọc trước sinh. Luận án Tiến sĩ, Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Trung ương. 2023

15. Nguyễn Khắc Hân Hoan, Phạm Việt Thanh, Trương Đình Kiệt, và cs. Chẩn đoán trước sinh bệnh thalassemia trên 290 trường hợp thai. *Tạp chí Nghiên cứu Y học*. 2011;34:34-35.

16. Zhang H, Li C, Li J, et al. Next-generation sequencing improves molecular epidemiological characterization of thalassemia in Chenzhou Region, P.R. China. *Clinical Laboratory Analysis*. 2019;33(4):e22845. doi:1

0.1002/jcla.22845

17. Nguyễn Thanh Dương, Mai Hữu
Khánh, Diệp Quốc Trãi, và cs. Nghiên cứu đột

biến gen gây bệnh β - thalassemia ở sinh viên
Trường Đại học Y Dược Cần Thơ năm 2022.
Tạp chí Y học Việt Nam. 2023;529.

Summary

DETECTION OF THALASSEMIA CARRIER BY USING NEXT-GENERATION SEQUENCING AND GAP-PCR IN SUBJECTS WITH PRE-MARTIAL, PRE-PREGNANCY, AND PRENATAL EXAMINATION

Thalassemia is a common recessive inherited disorder in Vietnam. Early detection of thalassemia carriers for prenatal counseling is essential in reducing the number of children born with moderate-severe thalassemia. The cross-sectional study aimed to determine the percentage of carriers and describe pathogenic/like pathogenic variants on *HBA* and *HBB* based on the retrospective thalassemia gene test results, using Next Generation Sequencing (NGS) and gap-PCR. 764 subjects were included in the study for pre-marital, pre-conception, and prenatal examination at Hanoi Medical University Hospital from February 2023 to October 2023. The thalassemia carrier rate was 18.1%, and these figures for *HBA*, *HBB*, and both *HBA* and *HBB* genes were 11.8%, 5.0%, and 1.3%, respectively. There were five pathogenic variants in *HBA* detected ($n = 100$), including SEA (70.0%), $\alpha 3.7$ (20.0%), SEA + $\alpha 3.7$, $\alpha 4.2$, HbCS, and THAI. CD26 (50%), CD41/42 (27.1%), CD17 (16.7%), -28A>G (4.2%), and CD71/72 (2.1%) were the pathogenic variants on the *HBB* gene that were identified ($n = 48$). NGS and gap-PCR can improve the ability to detect single-allele variants of the *HBA* gene and decrease the number of missing cases of coincident alpha and beta thalassemia carriers.

Keywords: Thalassemia carrier screening, next-generation sequencing, gap-PCR, prenatal counseling.