

BÁO CÁO HAI TRƯỜNG HỢP HIẾM GẶP MANG DỊ HỢP TỬ KÉP HB D-IRAN PHỐI HỢP BETA THALASSEMIA ĐẦU TIÊN TẠI VIỆT NAM

Nguyễn Thanh Ngọc Bình¹, Nguyễn Thùy Trang¹,
Nguyễn Thị Thu Hà¹, Đặng Thị Vân Hồng¹, Dương Quốc Chính¹

TOM TẮT

Bài báo báo cáo đặc điểm lâm sàng và sinh học phân tử của hai ca bệnh mang phối hợp Hb D – Iran và β^0 thalassemia (CD17) lần đầu tiên được phát hiện ở Việt Nam. Về lâm sàng, hai bệnh nhân đều có thiếu máu nhược sắc hồng cầu nhỏ. Đặc điểm của các kiểu hemoglobin được phân tích bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao và được xác định kiểu gen bằng phương pháp PCR và giải trình tự gen beta globin. Hai bệnh nhân được xác định đều mang dị hợp tử kép HbD-Iran phối hợp CD17. Mẹ của hai bệnh nhân mang dị hợp tử đơn HbD-Iran.

Từ khóa: HbD- Iran, Beta Thalassemia

SUMMARY

TWO CASES OF RARE COMPOUND HETEROZYGOTE OF HB D-IRAN AND BETA THALASSEMIA IN VIETNAM

The present report describes the hematologic and molecular study of two cases of Hb D(Iran) associated with β^0 thalassemia (CD17) found in Vietnam. The patients showed hypochromic, microcytic red cell picture with reduced red cell indices. The characterization of the hemoglobinopathy was made by electrophoretic and chromatographic techniques and confirmed by sequencing of the beta-globin gene. Both patients were found to be carriers of the gene for β^0 thalassemia (c.52A>T (p. Lys18Ter) as seen by the polymerase chain reaction (PCR) and Sanger Sequencing. Single base substitution GAA > CAA (indicative of Hb D-Iran in the heterozygous form was seen in the patients as well as the mother by sequencing.

Keywords: HbD- Iran, Beta Thalassemia

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hemoglobin D-Iran (HbD-Iran) đầu được mô tả bởi Rahbar năm 1973¹. HbD-Iran là kiểu Hemoglobin phổ biến tại miền bắc Ấn Độ, Iran và Pakistan. Đây là kết quả của sự thay thế acid glutamic thành glutamin tại vị trí 121 của chuỗi beta globin của Hemoglobin A. Tại Việt Nam, thể hemoglobin này rất hiếm gặp, vì thế các đặc điểm về lâm sàng, xét nghiệm của thể này cũng như sự kết hợp của biến thể di truyền này với

các biến thể gây bệnh Thalassemia khác chưa được mô tả nhiều. Trong bài báo này, chúng tôi xin mô tả đặc điểm lâm sàng và xét nghiệm của gia đình mang HbD-Iran trong đó người mẹ mang HbD Iran dị hợp tử và 2 người con mang gen β^0 thalassemia dị hợp tử phối hợp HbD-Iran.

II. CA LÂM SÀNG

Bệnh nhân nữ, 26 tháng tuổi, được gia đình đưa đến khám vì da xanh kéo dài. Khám lâm sàng, bệnh nhân có thiếu máu nhẹ, không có vàng da. Kết quả siêu âm ổ bụng thấy gan, lách không to. Tổng phân tích tế bào máu thấy thiếu máu nhược sắc hồng cầu nhỏ (Hb 100 g/l; MCV 53,6 fl; MCH 16,5 pg; MCHC 308 g/l) (bảng 1). Kết quả sinh hóa máu thấy nồng độ sắt huyết thanh là 15,3 $\mu\text{mol/L}$ (ngưỡng bình thường 7-26 $\mu\text{mol/L}$), nồng độ ferritin huyết thanh là 38 ng/ml (ngưỡng bình thường 30-300 ng/ml). Bệnh nhân được làm điện di huyết sắc tố bằng kỹ thuật sắc ký lỏng hiệu năng cao (High Performance Liquid Chromatography - HPLC) cho kết quả HbA1 11,9%; HbF 5,3%; HbE 82,8%. Trước khi đến Viện, trẻ cũng từng được khám tại một bệnh viện chuyên khoa Nhi cho kết quả có thiếu máu hồng cầu nhỏ và kết quả điện di có huyết sắc tố E. Dựa vào kích thước hồng cầu và kết quả điện di huyết sắc tố, bệnh nhân được chẩn đoán nghi ngờ mang mang HbE đồng hợp tử và có thể mang gen β^0 Thalassemia và, được chỉ định làm xét nghiệm sàng lọc CD26 cũng như các biến thể nhóm β^0 thalassemia như: CD17, CD41/42, CD71/72, IVSI-1 bằng phương pháp PCR. Kết quả sàng lọc gen cho thấy bệnh nhân âm tính với biến thể CD26 và dương tính dị hợp tử biến thể CD17. Kết quả không phù hợp hoàn toàn với kết quả điện di huyết sắc tố, vì vậy, BN được chỉ định thêm làm giải trình tự gen HBB bằng phương pháp giải trình tự gen Sanger (Kit BigDye Terminator v3.1 Ready Reaction Cycle Sequencing - Applied Biosystems) để sàng lọc các biến thể khác. Kết quả cho thấy bệnh nhân có các biến thể c.52A>T (p.Lys18Ter) (tức CD17) dị hợp tử và c.67G>C (p.Glu23Gln) (tức HbD^{Iran}) dị hợp tử.

Bệnh nhân có em gái 9 tháng tuổi, được làm sàng lọc bệnh Thalassemia, làm giải trình tự gen bằng phương pháp Sanger phát hiện các biến

¹Viện Huyết học – Truyền máu trung ương
Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thanh Ngọc Bình
Email: thanh.ngoc.binh.nguyen@gmail.com
Ngày nhận bài: 13.3.2023
Ngày phản biện khoa học: 105.5.2023
Ngày duyệt bài: 23.5.2023

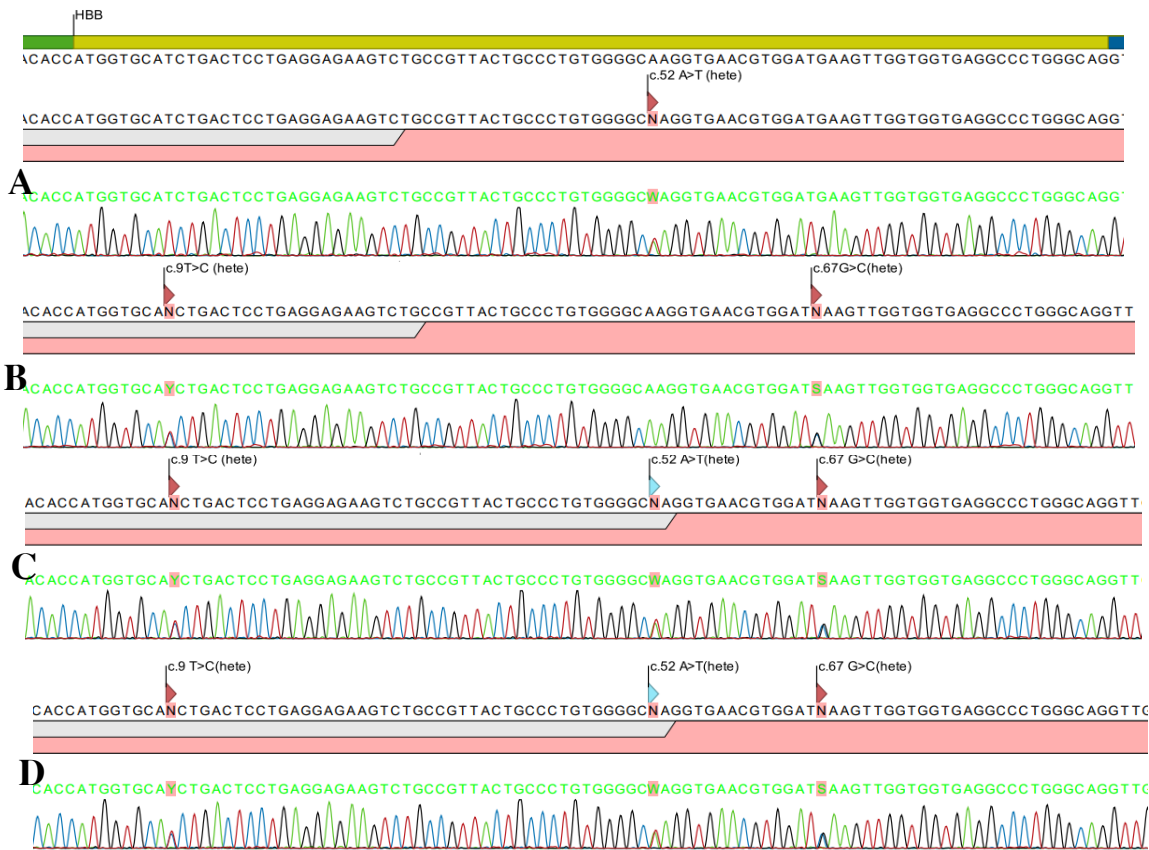
thể c.52A>T (p. Lys18Ter) (tức CD17) dị hợp tử và c.67G>C (p. Glu23Gln) (tức HbD^{Iran}) dị hợp tử (kết quả cụ thể tại bảng 1).

Bố mẹ của bệnh nhân sau đó cũng được làm giải trình tự gen HBB bằng phương pháp Sanger,

đã xác định được bố bệnh nhân mang biến thể c.52A>T (p. Lys18Ter) (tức CD17) dị hợp tử và mẹ bệnh nhân mang biến thể c.67G>C (p. Glu23Gln) (tức HbD^{Iran}) dị hợp tử (kết quả cụ thể tại bảng 1).

Bảng 1. Các chỉ số huyết học, sinh hóa, miễn dịch, sinh học phân tử của gia đình bệnh nhân.

Chỉ số	Bệnh nhân	Em gái	Bố	Mẹ
SLHC (G/L)	6,06	5,29	6,55	5,01
Hb (g/L)	100	92	131	131
MCV (fL)	53,6	53,1	64,9	80,3
MCH (pg)	16,5	17,4	19,9	26,2
MCHC (g/L)	308	328	307	326
Sắt huyết thanh (µmol/L)	15,3	16,2	15,2	12,1
Ferritin (ng/ml)	38	141	499	63,3
Điện di HST	HbA1 11,9 %; HbF 5,3 %; HbE 82,8 %	HbA1 8,4 %; HbF 24,1%; HbE 67,5 %	HbA1 95,3 %; HbF 5,3 %	HbA1 56,2 %; HbF 2,7 %; HbE 41,1 %
Bất thường di truyền	c.52A>T (p. Lys18Ter) c.67G>C (p. Glu23Gln)	c.52A>T (p. Lys18Ter) c.67G>C (p. Glu23Gln)	c.52A>T (p. Lys18Ter)	c.67G>C (p. Glu23Gln)



Hình 1. Hình ảnh kết quả giải trình tự gen Sanger của gia đình bệnh nhân

Trong đó Hai bệnh nhân và Bố đều mang CD17 (c.52A>T) dị hợp tử ; Hai bệnh nhân và mẹ mang HbD-Iran (c.67G>C) dị hợp tử. (A: Kết

quả của bố bệnh nhân, B: Kết quả của mẹ bệnh nhân; C: Kết quả của bệnh nhân, D: Kết quả của em gái bệnh nhân)

III. BÀN LUẬN

Hemoglobin D^{Iran} (HbD-Iran) (HBB: c.67G>C, p.Glu23Gln) lần đầu được mô tả bởi Rahbar năm 1973¹. Đây là kết quả của biến thể di truyền tại codon 23 làm thay đổi bộ ba GAA thành CAA dẫn đến sự thay thế acid glutamic thành glutamin trên chuỗi beta globin. Biến thể c.67G>C (p.Glu23Gln) trên gen HBB được báo cáo trên nhiều cơ sở dữ liệu khác nhau. Trên ClinVar, biến thể được báo cáo lần đầu năm 2018, và đến nay đã có 5 báo cáo về biến thể này. Phân lớp của biến thể là vấn đề đang được xem xét giữa 2 nhóm phân lớp là Biến thể gần như lành tính (Likely benign variation) và Biến thể không có bằng chứng xếp loại rõ ràng (Uncertain significance variation). Biến thể có mã số định danh trên cơ sở dữ liệu HbVar là HbVar 267 với kiểu gen dị hợp tử được báo cáo là có kiểu hình không có triệu chứng lâm sàng và kết quả điện di huyết sắc tố HbD Iran khoảng 36-45%. Biến thể HBB: c.67G>C, p.Glu23Gln nằm trên exon 1 của gen HBB, gây biến đổi vùng B4 của chuỗi xoắn trên chuỗi beta globin nên không gây ra ảnh hưởng đến tương tác giữa chuỗi beta globin và phân tử hem hay ảnh hưởng đến tương tác giữa chuỗi alpha và beta globin trong phân tử hemoglobin. Tuy nhiên vị trí codon 23 này cũng là vị trí có nhiều biến đổi với các kiểu biến thể Hemoglobin đã được báo cáo như: Hb D-Iran, Hb E-Saskatoon (HBB: p.Glu23Lys), Hb G-Coushatta (HBB: p.Glu23Ala), Hb D-Granada (HBB: p.Glu23Val), Hb G-Taipei (HBB: p.Glu23Gly), Hb Bury (HBB: p.Glu23Asp) và một biến thể gây bệnh HBB: c.67G>T (p.Glu23Ter)².

Khi điện di huyết sắc tố bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (High Performance Liquid Chromatography - HPLC), HbE và HbD-Iran có thời gian trễ liên quan (retention time) tương tự nhau trong cửa sổ A2. Một nghiên cứu so sánh các đặc điểm của HbD-Iran và HbE khi phân tích bằng phương pháp HPLC trên 12605 mẫu, cho thấy thời gian trễ liên quan trung bình ở cửa sổ A2 khi điện di của hai Hb này tương tự nhau (Hb D-Iran dị hợp tử là 3,57 phút; Hb D-Iran dị hợp tử kép phối hợp Beta Thalassemia là 3,61 phút; HbE dị hợp tử là 3,7 phút)³. Tuy nhiên, với kiểu gen dị hợp tử, điện tích đỉnh trung bình của Hb D-Iran và HbE khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,00001$ (HbE là $26,416 \pm 2,31\%$; HbD-Iran là $40,74 \pm 1,87\%$)³. Tác giả cũng khuyến cáo trong các trường hợp khó phân biệt, các mẫu nên được khẳng định lại bằng điện di bằng kiềm. Tại Việt Nam, HbE là một biến thể Hemoglobin phổ biến. Điều này giải

thích lí do kết quả điện di huyết sắc tố của bệnh nhân tại hai bệnh viện khác nhau đều kết luận mang huyết sắc tố E. Ca lâm sàng này cũng cho thấy vai trò quan trọng của việc chẩn đoán bằng các phương pháp sinh học phân tử (PCR, giải trình tự gen) để chẩn đoán xác định kiểu gen của bệnh nhân Thalassemia.

HbD-Iran là kiểu hemoglobin phổ biến tại miền bắc Ấn Độ, Iran và Pakistan trong đó tại Iran, đây là kiểu hemoglobin hay gặp nhất sau các thể alpha và beta thalassemia^{4,5}. Ở Việt Nam, chưa thấy có công bố nào về sự xuất hiện của HbD^{Iran}. Ca lâm sàng của gia đình trên đã đưa ra những mô tả đầu tiên về đặc điểm kiểu hình của bệnh nhân mang HbD-Iran dị hợp tử đơn thuần, cũng như HbD-Iran dị hợp tử kép kết hợp β -Thalassemia tại Việt Nam. Người mẹ mang dị hợp tử đơn HbD-Iran không có thiếu máu (Hb131g/l), hồng cầu kích thước nhỏ với MCV 80,3 fl, MCH 26,2 pg. Đặc điểm này cũng trùng hợp với các kết quả mà các tác giả trên thế giới đã mô tả ở bệnh nhân mang HbD-Iran đồng hợp tử và dị hợp tử: Bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp tử có thiếu máu nhẹ hồng cầu nhỏ nhược sắc (Hb 98,5G/l; MCV 56,1fl; MCH 17,7pg; MCHC 313); Bệnh nhân mang kiểu gen dị hợp tử không có thiếu máu nhưng hồng cầu kích thước nhỏ ((Hb 121,5G/l; MCV 83fl; MCH 21 pg; MCHC 338)³.

Kiểu gen dị hợp tử kép HbD-Iran và β^0 -Thalassemia không những hiếm gặp ở Việt Nam mà trên thế giới, số báo cáo cũng rất ít. Y văn ghi nhận một số báo cáo ca bệnh dị hợp tử kép HbD-Iran kết hợp với một số dạng biến thể β^0 -Thalassemia như mất đoạn 619bp, CD41/42, biến thể β^+ -Thalassemia như IVS1.5, hoặc kết hợp với các kiểu hemoglobin khác như HbD^{Punjab}, HbS^{6,7}. Đây cũng là ca bệnh đầu tiên tại Việt Nam cũng như trên thế giới báo cáo kiểu gen dị hợp tử kép HbD-Iran và CD17. Trong hai ca bệnh này, các bệnh nhân đều có thiếu máu mức độ nhẹ với hồng cầu nhỏ nhược sắc. Các trường hợp dị hợp tử kép HbD-Iran kết hợp với một số dạng biến thể β^0 -Thalassemia cũng báo cáo kiểu hình tương tự. Do HbD-Iran xuất hiện cùng cửa sổ với HbA2 khi làm HPLC, việc xác định sự tăng HbA2 để nghi ngờ có sự kết hợp với beta thalassemia rất khó khăn. Vì vậy việc chẩn đoán bằng các phương pháp sinh học phân tử để sàng lọc tình trạng mang gen của bệnh nhân trong những trường hợp này là rất cần thiết.

IV. KẾT LUẬN

Hb D-Iran là kiểu hemoglobin hiếm gặp ở Việt Nam. Người mang HbD-Iran dị hợp tử

thường không có biểu hiện lâm sàng. Hb D-Iran dễ bị chẩn đoán nhầm với Hb E khi sàng lọc bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao. Vì vậy, cần khẳng định kiểu gen bằng các phương pháp sinh học phân tử để đưa ra chẩn đoán và điều trị chính xác cho bệnh nhân.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Rahbar S.** Haemoglobin D Iran: 2 22 glutamic acid leads to glutamine (B4). Br J Haematol. 1973;24(1):31-35. doi:10.1111/j.1365-2141.1973.tb05724.x
2. **Transcript #00000017 (NM_000518.4, HBB gene) - Global Variome shared LOVD.** Accessed May 18, 2023. https://databases.lovd.nl/shared/transcripts/00000017#object_id=HBB&order=effect%2CDESC&search_variant_id=00000017&search_variant_on_transcript/DNA=C.68&page_size=100&page=1
3. **Dass J, Gupta A, Mittal S, Saraf A, Langer S, Bhargava M.** Comparison of the characteristics of two hemoglobin variants, Hb D-Iran and Hb E, eluting in the Hb A2 window. Blood Res. 2017;52(2):130-134. doi:10.5045/br.2017.52.2.130
4. **Ashtiani MTH, Monajemzadeh M, Sina AH, et al.** Prevalence of haemoglobinopathies in 34,030 healthy adults in Tehran, Iran. J Clin Pathol. 2009; 62(10):924-925. doi:10.1136/jcp.2009.064568
5. **Sachdev R, Dam AR, Tyagi G.** Detection of Hb variants and hemoglobinopathies in Indian population using HPLC: report of 2600 cases. Indian J Pathol Microbiol. 2010;53(1):57-62. doi:10.4103/0377-4929.59185
6. **Agrawal MG, Bhanushali AA, Dedhia P, et al.** Compound heterozygosity of Hb D(Iran) (beta(22) Glu->Gln) and beta(0)-thalassemia (619 bp-deletion) in India. Eur J Haematol. 2007; 79(3): 248-250. doi:10.1111/j.1600-0609.2007.00896.x
7. **Mohanty PK, Meher S, Dehury S, et al.** Compound heterozygote of Hb D(Iran) [HBB: c.67G>C, beta 22(B4) Glu>Gln] with beta(0)-thalassemia [c.41/42 (-CTTT)] from Eastern India. Hematol Transfus Cell Ther. 2018;40(1):82-85. doi:10.1016/j.bjhh.2017.09.001

TỶ LỆ VÀ MỐI LIÊN QUAN GIỮA NHIỄM VIRUS EPSTEIN-BARR VỚI UNG THƯ DẠ DÀY TẠI VIỆT NAM

Vũ Văn Khiên¹, Trần Thị Huyền Trang¹, Phan Quốc Hoàn¹,
Phạm Hồng Khánh², Nguyễn Quang Duật², Trần Thị Thanh Huyền¹,
Bùi Thanh Thuyết¹, Trịnh Xuân Hùng¹

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Việt Nam là nước có tỷ lệ lưu hành EBV cao trong cộng đồng, cũng như trong một số bệnh lý ung thư (ung thư vòm họng, Hodgkin lymphoma...). Tuy nhiên chưa có nghiên cứu nào về tỷ lệ nhiễm EBV ở bệnh nhân UTDD và các bệnh lý dạ dày khác. Nghiên cứu này nhằm mục tiêu xác định tình trạng nhiễm EBV và mối liên quan của EBV với đặc điểm UTDD. **Đối tượng & phương pháp:** Nghiên cứu cắt ngang trên 623 bệnh nhân, trong đó có: UTDD (n=154), LDD (n=129), LTT (n = 161) và VDDM (n=179). Chẩn đoán UTDD và VDDM dựa mô bệnh học. Tình trạng nhiễm EBV được xác định bằng kỹ thuật realtime-PCR. Đọc kết quả về EBV: (+) & (-). **Kết quả:** Tỷ lệ EBV dương tính ở bệnh nhân UTDD (76,6%), LDD (72,1%) và LTT (75,8%) đều tăng cao hơn có ý nghĩa (p < 0,05) so với tỷ lệ EBV dương tính ở bệnh nhân VDDM. Nhóm bệnh nhân Borrmann tít III có tỷ lệ nhiễm EBV (85,6%) cao hơn so với nhóm Borrmann tít I-II (56,8%), (p < 0,05). Nhóm bệnh

nhân UTDD thể lan tỏa/hỗn hợp nhiễm EBV (88,2%) cao hơn so với nhóm UTDD thể ruột (67,4%), (p < 0,05). **Kết luận:** Nhiễm EBV có thể là nguy cơ UTDD tại Việt Nam.

Từ khóa: Epstein-Barr virus, ung thư dạ dày, viêm dạ dày mạn, loét dạ dày, loét tá tràng

SUMMARY

PREVALENCE AND RELATIONSHIP BETWEEN EPSTEIN-BARR VIRUS INFECTION WITH CANCER IN VIET NAM

Background: Vietnam is a country with a high prevalence of EBV in the community, as well as in some cancers (nasopharyngeal cancer, Hodgkin lymphoma...). However, there have been no studies on the prevalence of EBV infection in patients with gastric cancer and other gastric diseases. This study aims to determine the status of EBV infection and the relationship of EBV with gastric cancer characteristics. **Subjects and methods:** A cross-sectional study of 623 patients with H. pylori infection, including: Gastric cancer (n=154), gastric ulcer (n=129), duodenal ulcer (n=161) and chronic gastritis (n=179). Diagnosis of gastric cancer and chronic gastritis based on histopathology. Cag-PAI status was determined by Realtime-PCR technique. Results on cag-PAI: (+) & (-). **Results:** The rate of positive EBV in patients with gastric cancer (76.6%), gastric ulcer (72.1%), and duodenal ulcer (75.8%) were significantly higher (p <

¹Bệnh viện TWQĐ 108

²Bệnh viện quân y 103 - Học viện Quân Y

Chịu trách nhiệm chính: Vũ Văn Khiên

Email: vuankhien108@yahoo.com.vn

Ngày nhận bài: 13.3.2023

Ngày phản biện khoa học: 9.5.2023

Ngày duyệt bài: 22.5.2023