

1. **Coronavirus disease (COVID-19) – World Health Organization.** Accessed March 22, 2023. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>
2. **COVID - Coronavirus Statistics - Worldometer.** Accessed March 21, 2023. <https://www.worldometers.info/coronavirus/>
3. **Thang đánh giá Lo âu - Trầm cảm - Stress (DASS 21).** Trang chủ. Published January 21, 2021. Accessed March 21, 2023. <http://nimh.gov.vn/thang-danh-gia-lo-au-tram-cam-stress-dass-21/>
4. **Hamaideh SH, Al-Modallal H, Tanash M, Hamdan-Mansour³ A.** Depression, anxiety and stress among undergraduate students during COVID-19 outbreak and "home-quarantine." Nurs Open. 2021;9(2):1423-1431
5. **Phan Việt Hưng, Trần Đức Long, Võ Văn Thi, Trần Công Lý, Nguyễn Thị Mỹ Nhiên, Phan Thanh Hải.** Tình trạng lo âu, trầm cảm và căng thẳng của sinh viên y trường Đại học Y Dược Cần Thơ trong đợt dịch Covid - 19 lần 4. Tạp Chí Dược Học Cần Thơ. 2022;(48):41-48
6. **Ghazawy ER, Ewis AA, Mahfouz EM, et al.** Psychological impacts of COVID-19 pandemic on the university students in Egypt. Health Promot Int. 2021;36(4):1116-1125. doi:10.1093/heapro/daaa147
7. **Đỗ Nam Khánh, Dương Thị Thu Hiền, Cao Thị Thúy Anh, Nguyễn Ngọc Minh Hải.** Thực trạng sức khỏe tâm thần và một số yếu tố liên quan của sinh viên tham gia chống dịch Covid 19 năm 2021. Tạp Chí Học Việt Nam. 2023;523(1).
8. **Natalia D, Syakurah RA.** Mental health state in medical students during COVID-19 pandemic. J Educ Health Promot. 2021;10:208. doi:10.4103/jehp.jehp_1296_20

ỨNG DỤNG LÝ THUẬT Gap-PCR VÀ C-ARMS-PCR TRONG XÁC ĐỊNH ĐỘT BIẾN GEN ALPHA GLOBIN Ở BỆNH NHÂN BỆNH HEMOGLOBIN H

Nguyễn Thị Kiều Trang¹, Võ Thành Trí², Trịnh Thị Hồng Cửa¹,
Đỗ Hoàng Long¹, Trần Thị Thùy Dung¹, Nguyễn Phúc Đức¹,
Phan Hoàng Đạt¹, Nguyễn Anh Tử³, Lê Thị Hoàng Mỹ¹

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Bệnh Hemoglobin H (HbH) là thể trung gian của α -thalassemia, bệnh di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường được đặc trưng bởi sự giảm hoặc không tổng hợp được chuỗi α -globin trong phân tử hemoglobin (Hb). Bệnh HbH gây ra do sự kết hợp các đột biến trên ba gen α -globin, việc xác định sự hiện diện của các đột biến này giúp chẩn đoán xác định bệnh HbH và tư vấn di truyền cho các thành viên trong gia đình bệnh nhân. **Mục tiêu:** Xác định tỷ lệ một số đột biến trên gen α -globin và kiểu gen của bệnh HbH bằng kỹ thuật Gap-polymerase chain reaction (Gap-PCR) và kỹ thuật Combine-amplification refractory mutation system- polymerase chain reaction (C-ARMS-PCR). **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang, 41 bệnh nhân HbH đến khám và điều trị tại Bệnh viện Huyết học-Truyền máu thành phố Cần Thơ được khảo sát 06 loại đột biến phổ biến trên gen α -globin bằng kỹ thuật Gap-PCR và C-ARMS-PCR. **Kết quả:** nghiên cứu xác định được 05 loại đột biến gồm $--SEA$, $-a^{3.7}$, a^{CS} , $-a^{4.2}$, a^{QS} với tỉ lệ tương ứng là 54,7%; 18,7%, 17,3%, 8,0% và 1,3%; chưa ghi nhận đột biến $--a^{THAI}$. Kiểu gen ($--SEA/a^{3.7}$) phổ biến nhất với 34,2%, tiếp theo là ($--SEA/a^{CS}$)

chiếm 31,7%, ($--SEA/a^{4.2}$) chiếm 14,6%, ($--SEA/a^{QS}$) chiếm 2,4%, và 17,1% còn lại chỉ xác định được một đột biến mất đoạn gen α -globin với kiểu gen ($--SEA/aa$). **Kết luận:** Gap-PCR và C-ARMS-PCR là hai kỹ thuật sinh học phân tử hiệu quả trong việc xác định các đột biến phổ biến trên gen α -globin trong bệnh HbH. **Từ khóa:** bệnh HbH, α -globin, gap-PCR, C-ARMS-PCR.

SUMMARY

APPLICATION OF Gap-PCR AND C-ARMS-PCR IN DETECTING ALPHA GLOBIN GENE MUTATIONS OF PATIENTS WITH HEMOGLOBIN H DISEASE

Background: Hemoglobin H (HbH) disease is α -thalassemia intermedia - an autosomal recessive inherited disease and typified by the reduced or absent production of the α -globin chains in hemoglobin molecule (Hb). HbH disease is caused by a combination of mutations on three α -globin genes, determining the presence of these mutations helps to accurately diagnose HbH disease and genetic counseling for the patient's family. **Objectives:** Determining the rate of α -globin gene mutations and genotypes of HbH disease by using Gap-polymerase chain reaction (Gap-PCR) and Combine-amplification refractory mutation system-polymerase chain reaction (C-ARMS-PCR). **Materials and methods:** This cross-sectional descriptive study was conducted, 41 HbH disease patients who went to Can Tho city Hematology Blood Transfusion Hospital for examination and treatment were surveyed for 06 common α -globin mutations by Gap-PCR and C-ARMS-PCR. **Results:** This Study identified 5 types of mutations including --

¹Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

²Bệnh viện Quốc tế Phương Châu

³Bệnh viện Huyết học-Truyền máu thành phố Cần Thơ

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Kiều Trang

Email: ktrangnxbvbt@gmail.com

Ngày nhận bài: 23.6.2023

Ngày phản biện khoa học: 15.8.2023

Ngày duyệt bài: 28.8.2023

SEA , $^{-\alpha^{3.7}}$, $^{\alpha^{CS}}$, $^{-\alpha^{4.2}}$, $^{\alpha^{QS}}$ with the corresponding rate of 54.7%; 18.7%, 17.3%, 8.0% and 1.3%, $^{-\alpha^{THAI}}$ mutation has not been recorded. ($^{-SEA}/^{-\alpha^{3.7}}$) genotype was the most common with 34.2%, followed by ($^{-SEA}/\alpha^{CS}$) accounting for 31.7%, ($^{-SEA}/^{-\alpha^{4.2}}$) with 14.6%, ($^{-SEA}/\alpha^{QS}$) with 2.4%, and the remaining 17.2% only identified one deletion of α -globin gene mutation with genotype ($^{-SEA}/aa$). **Conclusions:** Gap-PCR and C-ARMS-PCR are effective for determining common α -globin gene mutations in HbH disease patients.

Keywords: HbH disease, α -globin, Gap-PCR, C-ARMS-PCR.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Alpha thalassemia (α -thal) là bệnh thiếu máu tan máu di truyền trên gen lặn ở nhiễm sắc thể thường được đặc trưng bởi sự giảm hoặc thiếu hụt tổng hợp chuỗi α -globin trong phân tử hemoglobin (Hb). Bệnh α -thalassemia xuất hiện ở tất cả các chủng tộc trên thế giới, và đặc biệt phổ biến ở các nước Đông Nam Á. Tại Trung Quốc, người mang gen α -thalassemia chiếm 5-15% dân số, Hồng Kông chiếm 4%, Thái Lan chiếm 15-30%, Lào 43% và Việt Nam chiếm 5% [1], [2].

Ở người bình thường, trên mỗi NST số 16 có hai gen α -globin và có tổng số bốn gen α -globin trên hai NST 16 tương đồng ($\alpha\alpha/aa$). Tùy theo số lượng gen α -globin bị đột biến cũng như sự kết hợp đa dạng giữa các loại alen đột biến mà bệnh lý α -thalassemia có biểu hiện lâm sàng ở nhiều mức độ khác nhau. Bệnh HbH là α -thalassemia thể trung gian, bệnh nhân HbH sinh ra, được thừa hưởng gen bệnh từ cả cha và mẹ. Trong bệnh HbH, sự xuất hiện của HbH và/hoặc HbBart's, hai loại Hb kém bền và không có khả năng vận chuyển oxy gây ra các biểu hiện lâm sàng từ nhẹ đến nặng gồm thiếu máu do tan máu, gan to, lách to, biến dạng xương mặt, thay đổi hình thái hồng cầu rất đa dạng, thể vùi HbH, ... Nhiều trường hợp bệnh HbH gây ra do đột biến không mất đoạn (đột biến điểm), biểu hiện lâm sàng có thể nặng hơn, bệnh nhân phụ thuộc truyền máu từ nhỏ, dẫn đến biến chứng và tử vong sớm. Khảo sát các đột biến trên gen α -globin và kiểu gen của các thể bệnh là cơ sở cho tư vấn tiền hôn nhân, tư vấn di truyền cho người mang gen, tư vấn di truyền trước sinh bệnh α -thalassemia nói chung cũng như bệnh HbH nói

riêng nhằm ngăn chặn việc sinh ra các thể bệnh nặng [2].

Xuất phát từ những lý do trên chúng tôi tiến hành nghiên cứu: "Ứng dụng kỹ thuật Gap-PCR và C-ARMS-PCR trong xác định đột biến gen alpha globin ở bệnh nhân bệnh Hemoglobin H".

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: 41 bệnh nhân đến khám hoặc điều trị tại Bệnh viện Huyết Học-Truyền Máu thành phố Cần Thơ được chẩn đoán bệnh HbH khi phân tích thành phần hemoglobin có HbH và/hoặc HbBart's từ 12/2022 đến tháng 05/2023.

Tiêu chuẩn loại trừ: bệnh nhân không đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: mô tả cắt ngang.

Nội dung nghiên cứu: xác định tỷ lệ một số loại đột biến gen α -globin và kiểu gen của bệnh HbH bằng kỹ thuật Gap-PCR và C-ARMS-PCR.

Phương pháp thu thập và xử lý số liệu:

Mẫu DNA của 41 bệnh nhân tham gia nghiên cứu được tiến hành khảo sát 4 loại đột biến mất đoạn gen α -globin phổ biến tại Việt Nam gồm $^{-SEA}$, $^{-\alpha^{3.7}}$, $^{-\alpha^{4.2}}$, $^{-\alpha^{THAI}}$ bằng kỹ thuật Gap-PCR, và 2 đột biến điểm α^{CS} và α^{QS} bằng kỹ thuật C-ARMS-PCR tại Phòng Sinh học phân tử, Trường Đại học Y Dược Cần Thơ. Trình tự thực hiện gồm:

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

- **Kỹ thuật Gap-PCR:** mỗi 50 μ L phản ứng chứa 100-200ng DNA, 11 đoạn môi (Bảng 1), 200 μ M dNTP mỗi loại, 1,5mM MgCl₂, 1X Q-solution và 2,5 đơn vị HotStarTaq DNA polymerase trong dung dịch đệm phản ứng (Qiagen, Đức). Giai đoạn biến tính ban đầu 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 cuối cùng ở 72°C. Điện di sản phẩm sau phản ứng PCR.

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

Môi	Trình tự môi (5' → 3')	Nồng độ	Kích thước
LIS1-F	GTCGTCAGTGGCAGCGTAGATC	0,5 μ M	2503bp
LIS1-R	GATTCCAGGTTGTAGACGGACTG	0,5 μ M	
α 2/3.7-F	CCCCTCGCCAAGTCCACCC	0,2 μ M	2022bp
3.7-R	AAAGCACTCTAGGGTCCAGCG	0,2 μ M	
α 2/3.7-F	CCCCTCGCCAAGTCCACCC	0,2 μ M	1800bp

α 2-R	AGACCAGGAAGGGCCGGTG	0,2 μ M	1628bp
4.2-F	GGTTTACCCATGTGGTGCCTC	0,5 μ M	
4.2-R	CCCGTTGGATCTTCTCATTTCCC	0,5 μ M	
SEA-F	CGATCTGGGCTCTGTGTTCTC	0,2 μ M	1349bp
SEA-R	AGCCACGTTGTGTTTCATGGC	0,2 μ M	
THAI-F	GGCACTGAGAGCCCTTCACG	0,3 μ M	1024bp
THAI-R	CAAGTGGGCTGAGCCCTTGAG	0,3 μ M	

- Kỹ thuật C-ARMS-PCR ở các mẫu chỉ có đột biến --^{SEA}: một mẫu DNA có hai giếng phản ứng gồm:

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

+ Giếng N (không đột biến): mỗi 50 μ L phản ứng chứa 100-200ng DNA, 5 đoạn mỗi CS-1, CS-

N, QS-N, 11E và 11F (Bảng 2), 1X hỗn hợp MyTaqTM HS Mix (Bioline, Mỹ), 0,5X Q-solution (Qiagen, Đức).

+ Giai đoạn biến tính ban đầu trong 5 phút ở 95 $^{\circ}$ C, sau đó là 34 chu kỳ biến tính ở 95 $^{\circ}$ C trong 60 giây, bắt cặp ở 66 $^{\circ}$ C trong 60 giây và kéo dài ở 72 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C. Điện di sản phẩm PCR thu được sau phản ứng.

Bảng 2. Trình tự mỗi và kích thước sản phẩm của kỹ thuật C-ARMS-PCR [8].

Mỗi	Trình tự mỗi (5'→ 3')	Nồng độ	Kích thước
CS-1	CCTGGGCCGCACTGACCCTATT	0,2 μ M	183bp
CS-M	AGGAGGAACGGCTACCGAGGCTCCAGATTG	0,1 μ M	
QS-M	CGGTGCTCACAGAAGCCAGGAAGCTTGGCCG	0,1 μ M	138bp
CS-N	AGGAGGAACGGCTACCGAGGCTCCAGATTA	0,2 μ M	183bp
QS-N	CGGTGCTCACAGAAGCCAGGAAGCTTGGCCA	0,2 μ M	138bp
11E	AGTGCTGCAAGAAGAACAACCTACC	0,4 μ M	323bp
11F	CTCTGCATCATGGGCAGTGAGCTC	0,2 μ M	

- Điện di trên gel agarose: 5 μ L sản phẩm PCR được điện di trong dung dịch Tris-acetate-EDTA ở hiệu điện thế 90V, cường độ dòng điện 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.

- Đọc kết quả điện di trên máy đọc UV (Major Science):

+ Phản ứng Gap-PCR: các đột biến mất đoạn được xác định bằng sự xuất hiện của các băng tương ứng với thang đo chuẩn.

+ Phản ứng C-ARMS-PCR: mỗi mẫu DNA có 2 lane sản phẩm, lane N dùng mỗi bình thường và lane M dùng mỗi đột biến. Sự xuất hiện băng ở lane N đại diện cho mẫu không mang đột biến, sự xuất hiện băng ở lane M nghĩa là đã có đột biến xảy ra.

Các số liệu sau khi thu thập được mã hóa và xử lý bằng phần mềm SPSS 19.0

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Bảng 3. Đặc điểm về tuổi của đối tượng nghiên cứu

Tuổi	Bệnh nhân HbH (n=41)
------	----------------------

Trung bình \pm Độ lệch chuẩn	45,9 \pm 22,0
Giá trị nhỏ nhất-Giá trị lớn nhất	8-82

Nhận xét: tuổi trung bình của bệnh nhân HbH là 49,5 tuổi, lớn nhất là 82 tuổi nhỏ nhất là 8 tuổi.

Bảng 4. Đặc điểm giới tính của đối tượng nghiên cứu

Đặc điểm	Tần số	Tỷ lệ (%)	
Giới tính	Nam	6	14,6
	Nữ	35	85,4
Tổng	41	100	

Nhận xét: tỷ lệ nữ giới là 85,4%, nam giới là 14,6%.

3.2. Tỷ lệ một số loại đột biến gen α -globin ở bệnh nhân HbH

Bảng 5. Tỷ lệ một số loại đột biến gen α -globin ở bệnh nhân HbH

Kỹ thuật	Loại đột biến	Tần số	Tỷ lệ (%)
Gap-PCR	-- ^{SEA}	41	54,7
	- α ^{3.7}	14	18,7
	- α ^{4.2}	6	8,00
	-- ^{THAI}	0	0
C-ARMS-PCR	α ^{CS}	13	17,3
	α ^{QS}	1	1,3
Tổng		75	100

Nhận xét: Kỹ thuật Gap-PCR xác định được 3 loại đột biến mất đoạn gồm --^{SEA}, - α ^{3.7}, - α ^{4.2} với tỉ lệ tương ứng là 54,7%; 18,7% và 8,0%; chưa

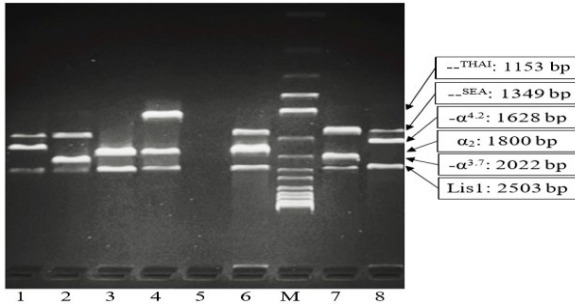
ghi nhận đột biến -- α^{THAI} . Kỹ thuật C-ARMS-PCR xác định 2 loại đột biến điểm α^{CS} và α^{QS} với tỉ lệ 17,3% và 1,3%.

3.3. Một số kiểu gen ở bệnh nhân HbH

Bảng 6. Tỷ lệ kiểu gen ở bệnh nhân HbH

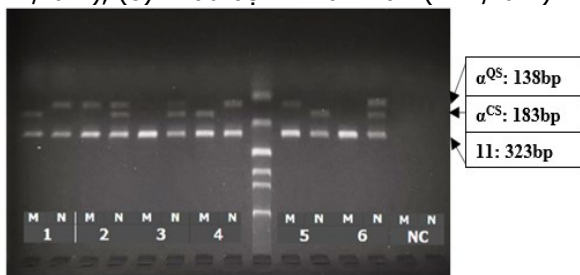
Kiểu gen bệnh HbH	Tần số	Tỷ lệ (%)
Dạng 2 đột biến mất đoạn	(-- $SEA/a^{3.7}$)	14 / 34,2
	(-- $SEA/a^{4.2}$)	6 / 14,6
Dạng một đột biến mất đoạn và một đột biến điểm	(-- SEA/a^{CSa})	13 / 31,7
	(-- SEA/a^{QSa})	1 / 2,4
	(-- SEA/aa)	7 / 17,1
Tổng	41	100

Nhận xét: kiểu gen (-- $SEA/a^{3.7}$) chiếm tỷ lệ cao nhất với 34,2%, tiếp theo là kiểu gen (-- SEA/a^{CSa}) chiếm tỷ lệ 31,7%, kiểu gen (-- $SEA/a^{4.2}$) chiếm 14,6%, kiểu gen (-- SEA/a^{QSa}) chiếm 2,4%, và 17,1% còn lại có kiểu gen (-- SEA/aa).



Hình 1: Kết quả điện di sản phẩm Gap-PCR

(M) thang chuẩn 1kb, (1) mẫu chứng (-- $SEA/a^{4.2}$), (2) mẫu chứng (-- $SEA/a^{3.7}$), (3) mẫu không có đột biến mất đoạn gen (aa/aa), (4): mẫu chứng (-- $THAI/aa$), (5): nước cất, (6): mẫu bệnh nhân HbH (-- SEA/aa), (7) mẫu bệnh nhân HbH (-- $SEA/a^{3.7}$), (8): mẫu bệnh nhân HbH (-- $SEA/a^{4.2}$).



Hình 2: Kết quả điện di sản phẩm C-ARMS-PCR.

(M) thang chuẩn 100bp, (1) mẫu chứng đột biến α^{CS} với kiểu gen (-- SEA/a^{CSa}), (2) mẫu chứng đột biến α^{QS} với kiểu gen (aa/a^{QSa}), (3) mẫu chứng không đột biến điểm α^{CS} và α^{QS} với kiểu gen (aa/aa), (4) mẫu bệnh nhân HbH có kiểu gen (-- SEA/a^{CSa}), (5) mẫu bệnh nhân HbH có kiểu gen (-- SEA/a^{QSa}). (6) mẫu bệnh nhân HbH với kiểu gen (-- SEA/aa), (NC): nước cất.

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 45,9 tuổi, lớn nhất là 82 tuổi và nhỏ nhất là 8 tuổi. Kết quả nghiên cứu tương đồng với tác giả Lê Thị Hoàng Mỹ tại Cần Thơ năm 2022 với độ tuổi trung bình là 44, lớn nhất là 81 tuổi và nhỏ nhất là 9 tuổi [1]. Theo nghiên cứu của tác giả Pornprasert S năm 2018 tại Thái Lan bệnh nhân HbH có tuổi trung bình là 33,0 với tuổi lớn nhất là 65 và nhỏ nhất là 1 tuổi, thấp hơn so với nghiên cứu của chúng tôi [6]. Sự khác biệt này có thể là do khác nhau về quần thể và cỡ mẫu nghiên cứu.

Khi khảo sát về đặc điểm giới tính ở bệnh nhân HbH tỷ lệ nữ giới trong nghiên cứu của chúng tôi là 85,4% cao hơn so với nam giới là 14,6%. Theo nghiên cứu của tác giả Ngô Diễm Ngọc năm 2018 trên 97 bệnh nhân HbH thì tỷ lệ nữ giới chiếm 47,4% và nam giới chiếm 52,5% [2], trong khi nghiên cứu của Chanchai Traivaree năm 2018 ở miền trung Thái Lan tỷ lệ này lần lượt là 53,4% và 46,6% [7]. Tỷ lệ giới tính trong nghiên cứu của chúng tôi có sự khác biệt so với hai nghiên cứu trên. Thực tế trong nghiên cứu của chúng tôi một số bệnh nhân nữ được phát hiện mắc bệnh khi đang trong thai kỳ: có trường hợp tình trạng thiếu máu trở nên nặng hơn dẫn đến việc phải nhập viện truyền máu, một số khác có lâm sàng nhẹ hơn được phát hiện mắc HbH qua sàng lọc khi khám thai định kỳ, ở nam giới ít có điều kiện được sàng lọc hơn nên bị bỏ sót. Bên cạnh đó, kiểu gen -- $SEA/a^{3.7}$ chiếm tỷ lệ chủ yếu trong nghiên cứu của chúng tôi, bệnh nhân mang kiểu gen này thường có biểu hiện lâm sàng nhẹ nên có thể sự khác biệt về khả năng chịu đựng của nữ và nam giới dẫn đến việc các bệnh nhân nam không đến khám bệnh. Có thể đây là nguyên nhân khiến cho tỷ lệ giới tính trong nghiên cứu có sự chênh lệch lớn.

4.2. Tỷ lệ một số loại đột biến gen α -globin ở bệnh nhân HbH.

Sau khi phân tích mẫu DNA của 41 bệnh nhân HbH, ghi nhận có 61 alen mang đột biến mất đoạn gen được phát hiện bằng kỹ thuật Gap-PCR và 14 alen mang đột biến điểm được phát hiện bằng kỹ thuật C-ARMS-PCR. Trong đó: phổ biến nhất là đột biến -- SEA với 54,7%, tiếp theo là đột biến -- $a^{3.7}$ với 18,7%, đột biến α^{CS} với 17,3%, đột biến -- $a^{4.2}$ với 8% và đột biến α^{QS} với 1,3% các alen có đột biến.

Tỷ lệ các loại đột biến trong nghiên cứu tương đồng với nghiên cứu của tác giả Sheng He ở Quảng Tây, Trung Quốc năm 2015 với tỷ lệ đột biến -- SEA là 49,3%, đột biến -- $a^{3.7}$ là 19,7%, đột

biến α^{CS} là 14,9%, đột biến $-\alpha^{4.2}$ là 10,3%, đột biến α^{QS} là 2,0% và nghiên cứu của tác giả Shiqiang Luo năm 2020 với tỷ lệ các loại đột biến $--_{SEA}$, $-\alpha^{3.7}$, α^{CS} , $-\alpha^{4.2}$, α^{QS} lần lượt là 47,3%, 22,8%, 11,7%, 8,7%, 2,7% [3],[4]. Theo nghiên cứu của tác giả Ngô Diễm Ngọc tỷ lệ đột biến $--_{SEA}$ là 50,0%, đột biến $-\alpha^{3.7}$ chiếm 10,8%, đột biến α^{CS} chiếm 27,3%, đột biến $-\alpha^{4.2}$ chiếm 4,6%, đột biến α^{QS} chiếm 2,1%, có sự khác biệt về tỷ lệ đột biến $-\alpha^{3.7}$ và α^{CS} so với nghiên cứu của chúng tôi [2]. Chúng tôi cho rằng nguyên nhân của sự khác nhau này có thể xuất phát từ đối tượng nghiên cứu và cỡ mẫu khác nhau. Bệnh nhân HbH có kiểu gen ($--_{SEA}/-\alpha^{3.7}$) có biểu hiện lâm sàng nhẹ hơn ($--_{SEA}/\alpha^{CSa}$) nên độ tuổi nhập viện truyền máu của bệnh nhân HbH nhóm này sẽ cao hơn, dẫn đến tỷ lệ đột biến $-\alpha^{3.7}$ ở bệnh nhi trong nghiên cứu của tác giả Ngô Diễm Ngọc thấp hơn nghiên cứu của chúng tôi. Ngược lại, ở bệnh nhân HbH có kiểu gen ($--_{SEA}/\alpha^{CSa}$) có biểu hiện lâm sàng nặng hơn, tỷ lệ bệnh nhân phụ thuộc truyền máu cao (18,9%) dẫn đến tỷ lệ đột biến $-\alpha^{CS}$ ở bệnh nhi trong nghiên cứu của tác giả Ngô Diễm Ngọc cao hơn chúng tôi [2]. Từ các nghiên cứu trên có thể 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],[3],[4]. Nghiên cứu chưa ghi nhận trường hợp nào mang đột biến mất đoạn hai gen $--_{THAI}$. Do đột biến $--_{THAI}$ không phổ biến tại Việt Nam, tỷ lệ đột biến này tại miền Nam Việt Nam khá thấp (0,6%) nên với cỡ mẫu còn hạn chế (n=41) nghiên cứu của chúng tôi chưa phát hiện được đột biến $--_{THAI}$ [1].

4.3. Một số kiểu gen ở bệnh nhân HbH.

Dựa vào kết quả khảo sát các đột biến gen α -globin, nghiên cứu xác định các kiểu gen của bệnh nhân HbH với tỷ lệ như sau: kiểu gen ($--_{SEA}/-\alpha^{3.7}$) chiếm tỷ lệ cao nhất với 34,2%, tiếp theo là kiểu gen ($--_{SEA}/\alpha^{CSa}$) chiếm tỷ lệ 31,7%, kiểu gen ($--_{SEA}/-\alpha^{4.2}$) là 14,6%, kiểu gen ($--_{SEA}/\alpha^{QSa}$) là 2,4% và 17,1% còn lại chỉ xác định được một đột biến mất đoạn 2 gen α -globin với kiểu gen là ($--_{SEA}/aa$). Kết quả nghiên cứu có sự tương đồng so với tác giả Sheng He tại Trung Quốc năm 2015 với tỷ lệ các kiểu gen: ($--_{SEA}/-\alpha^{3.7}$) chiếm 39,0%, ($--_{SEA}/\alpha^{CSa}$) là 29,2%, ($--_{SEA}/-\alpha^{4.2}$) là 20,5%, ($--_{SEA}/\alpha^{QSa}$) là 4,0% [3].

Theo nghiên cứu của tác giả Ngô Diễm Ngọc năm 2018, kiểu gen ($--_{SEA}/-\alpha^{3.7}$) chiếm tỷ lệ 21,6%, ($--_{SEA}/\alpha^{CSa}$) là 54,6%, ($--_{SEA}/-\alpha^{4.2}$) là 9,2%, ($--_{SEA}/\alpha^{QSa}$) là 4,1% [2]. Nghiên cứu của Xuejuan Nong tại Trung Quốc năm 2020 ghi nhận kiểu gen ($--_{SEA}/-\alpha^{3.7}$) chiếm 35,3%, kiểu gen ($--_{SEA}/\alpha^{QSa}$) chiếm 44,9%, kiểu gen ($--_{SEA}/-$

$\alpha^{4.2}$) chiếm 13,7%, kiểu gen ($--_{SEA}/\alpha^{QSa}$) chiếm 1,5% [5]. Như vậy, ngoại trừ kiểu gen ($--_{SEA}/\alpha^{CSa}$) có tỷ lệ thấp hơn so với các nghiên cứu khác thì các kiểu gen còn lại trong nghiên cứu của chúng tôi tương tự với các tác giả tại Việt Nam và trên thế giới. Nguyên nhân của sự khác biệt này có thể là do sự khác nhau về đối tượng nghiên cứu và sự hạn chế về cỡ mẫu trong nghiên cứu của chúng tôi.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã ghi nhận tỷ lệ 5 loại đột biến gen α -globin ở bệnh nhân HbH, bao gồm: đột biến $--_{SEA}$ chiếm tỷ lệ 54,7%, đột biến $-\alpha^{3.7}$ chiếm 18,7%, đột biến α^{CS} chiếm 17,3%, đột biến $-\alpha^{4.2}$ chiếm 8% và đột biến α^{QS} chiếm 1,3%, chưa ghi nhận đột biến $--_{THAI}$. Nghiên cứu xác định một số kiểu gen bệnh HbH, bao gồm: kiểu gen ($--_{SEA}/-\alpha^{3.7}$) chiếm tỷ lệ 34,2%, kiểu gen ($--_{SEA}/\alpha^{CSa}$) chiếm 31,7%, kiểu gen ($--_{SEA}/-\alpha^{4.2}$) chiếm 14,6%, kiểu gen ($--_{SEA}/\alpha^{QSa}$) chiếm 2,4% và 17,1% còn lại chỉ xác định được một đột biến mất đoạn 2 gen α -globin với kiểu gen là ($--_{SEA}/aa$). Gap-PCR và C-ARMS-PCR là kỹ thuật sinh học phân tử hiệu quả trong việc xác định các đột biến gen α -globin gây bệnh HbH.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Thị Hoàng Mỹ, Võ Thành Trí (2023), "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, 57, tr 94-101.
2. Ngô Diễm Ngọc (2018), Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, kiểu gen của người mắc bệnh HbH và chẩn đoán trước sinh bệnh α -thalassemia, Luận án tiến sĩ, Đại học Y Hà Nội.
3. He S, Zhang Q, Chen B Y, et al (2015), "Genotypes and clinical features of 595 children with HbH disease in Guangxi, China", Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi, 17(9), 908-911.
4. Luo S, Chen X, Chen L, et al (2020), "Analysis of Hb levels and degree of anemia in relation to genotype in 615 patients with hemoglobin H disease", Expert Rev Hematol, 13(9), 1027-1033.
5. Nong X, Xu G, Li J, 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), 1326-1330.
6. Pornprasert S, Salaeh N A, Tookjai M, et al (2018), "Hematological Analysis in Thai Samples With Deletional and Nondeletional HbH Diseases", Lab Med, 49(2), 154-159.
7. Traivaree C, Boonyawat B, Monsereenusorn C, et al (2018), "Clinical and molecular genetic features of Hb H and AE Bart's diseases in central Thai children", Appl Clin Genet, 11, 23-30.
8. Wee Y C, Tan K L, Chua K H, et al (2009), "Molecular characterisation of Haemoglobin Constant Spring and Haemoglobin Quang Sze with a Combine-Amplification Refractory Mutation System", Malays J Med Sci, 16(3), 21-28.