

Xác định đột biến gen α -thalassemia bằng kỹ thuật Multiplex ligation-dependent probe amplification

Lê Thị Phương, Vương Vũ Việt Hà, Trần Văn Khánh*

Trường Đại học Y Hà Nội, 1 Tôn Thất Tùng, phường Trung Tự, quận Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 12/10/2022; ngày chuyển phản biện 15/10/2022; ngày nhận phản biện 3/11/2022; ngày chấp nhận đăng 8/11/2022

Tóm tắt:

Việt Nam là nước có tỷ lệ người mang đột biến gen bệnh α -thalassemia cao, vì vậy việc sàng lọc người lành mang gen này của những cặp vợ chồng đã có một người mang đột biến gen gây bệnh là rất quan trọng để phòng tránh sinh con bị bệnh. Bệnh α -thalassemia di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường, tùy theo số lượng chuỗi α bị thiếu hụt mà mức độ biểu hiện lâm sàng của bệnh ở các cấp độ khác nhau. Mẫu nghiên cứu được thu thập và thực hiện phân tích đột biến gen tại Trung tâm Nghiên cứu Gen - Protein, Trường Đại học Y Hà Nội. Với mục tiêu sàng lọc các đột biến xóa đoạn và không xóa đoạn bằng kỹ thuật Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) của 85 người đã có vợ hoặc chồng là người lành mang gen bệnh, nghiên cứu đã xác định được 38/85 người mang đột biến, bao gồm: 35 trường hợp đột biến xóa đoạn (26 --^{SEA}, 5 - $\alpha^{3.7}$, 1 - $\alpha^{4.2}$, 1 --^{THAI}, 1 xóa toàn bộ gen và 1 xóa *POLR3K-ITFG3*) và 3 trường hợp đột biến không xóa đoạn (2 - α^{HbCs} , 1 anti^{3.7}). Đột biến xóa đoạn chiếm tỷ lệ 92,1%, còn đột biến không xóa đoạn là 7,9%.

Từ khóa: đột biến không xóa đoạn, đột biến xóa đoạn, Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA), người mang gen α -thalassemia.

Chỉ số phân loại: 3.1

1. Đặt vấn đề

α -thalassemia là bệnh rối loạn huyết sắc tố di truyền phổ biến nhất trên thế giới, đặc trưng bởi sự suy giảm sản xuất chuỗi α -globin trong phân tử hemoglobin. Bệnh phân bố rộng rãi ở các vùng và quốc gia khác nhau, đặc biệt là các nước Đông Nam Á. Việt Nam là nước có tỷ lệ người mang đột biến gen bệnh được phát hiện với tần số cao nhất trong khu vực [1].

Ở người trưởng thành bình thường, 97% tổng lượng huyết sắc tố là hemoglobin A1 (HbA1), 3% còn lại bao gồm hemoglobin A2 (HbA2) và hemoglobin bào thai (HbF - foetal hemoglobin). Chuỗi α -globin được mã hóa bởi 2 gen hemoglobin alpha 1 (*HBA1*) và alpha 2 (*HBA2*) nằm ở cụm gen α -globin trên nhánh ngắn nhiễm sắc thể số 16 (16p13.3). Mỗi gen gồm 2 alen quy định tổng hợp chuỗi α -globin, tùy thuộc vào số lượng alen bị xóa đoạn hoặc giảm chức năng mà các biểu hiện lâm sàng của bệnh α -thalassemia xảy ra ở các mức độ khác nhau. Ở những cặp vợ chồng đã có một người mang đột biến gen gây bệnh thì việc sàng lọc đột biến ở người còn lại là rất quan trọng, để tránh sinh con bị bệnh. Dạng bệnh α -thalassemia nặng nhất là hội chứng hemoglobin Bart (Hb Bart), gây ra bởi sự mất hoặc bất hoạt của cả 4 gen α -globin (---) dẫn đến thiếu Hb vận chuyển ôxy gây phù thai, đứa trẻ có thể tử vong ngay trong giai đoạn bào thai (23-38 tuần) hoặc ngay sau khi sinh. Dạng

thường gặp nhất là bệnh hemoglobin H (HbH), do mất hoặc bất hoạt 3 gen α -globin (--/- α), trẻ bị bệnh do thiếu máu, tan máu và có thể phải phụ thuộc truyền máu cả đời. Những người chỉ mất hoặc bất hoạt 1 đến 2 gen α -globin là những người lành mang gen bệnh, họ chỉ biểu hiện thiếu máu nhẹ hoặc không có bất kỳ triệu chứng nào [2].

Trên 90% các trường hợp là do đột biến xóa đoạn gen, có thể xảy ra trên một hoặc cả 2 gen *HBA1* và *HBA2*, hoặc toàn bộ cụm gen α -globin, bao gồm cả gen ζ -globin; 10% còn lại là các đột biến không xóa đoạn, bao gồm các đột biến điểm, đột biến lặp đoạn. Dạng đột biến điểm hay gặp nhất ở Đông Nam Á là Hb Constant Spring (HbCs), sự thay thế T bằng C ở bộ 3 kết thúc của gen *HBA2* làm kéo dài chuỗi α -globin [3, 4]. Dạng đột biến không xóa đoạn hay gặp thứ hai là đột biến lặp đoạn, có thể chỉ lặp một gen *HBA* đơn lẻ nhưng cũng có thể lặp toàn bộ cụm gen α -globin, bao gồm cả các yếu tố điều hòa. Đột biến lặp đoạn có thể không ảnh hưởng đến việc sản xuất các chuỗi α -globin ở người bình thường, tuy nhiên nó sẽ làm nghiêm trọng hơn kiểu hình ở bệnh nhân beta-thalassaemia do sự mất cân bằng giữa α -globin và beta-globin.

Các đột biến xóa đoạn gen *HBA* thông thường được xác định bằng kỹ thuật Gap-PCR (Gap-polymerase chain reaction), ARMS-PCR (Single-tube multiplex amplification refractory mutation system PCR) do chi phí thấp và thiết bị

*Tác giả liên hệ: Email: tranvankhanh@hmu.edu.vn

Detection of α -thalassemia mutations by Multiplex ligation-dependent probe amplification

Thi Phuong Le, Vu Viet Ha Vuong, Van Khanh Tran*

Hanoi Medical University,

1 Ton That Tung Street, Trung Tu Ward, Dong Da District, Hanoi, Vietnam

Received 12 October 2022; revised 3 November 2022; accepted 8 November 2022

Abstract:

Vietnam is a country with a high rate of people carrying α -globin gene mutations, therefore, it is highly important to screen for α -thalassemia carriers, especially in couples with one diagnosed α -carrier, in order to prevent and avoid having α -thalassemia major offspring. α -thalassemia is an inherited autosomal recessive disease, of which the phenotype depends on the degree of α -globin chain deficiency. Research samples were collected and analysed gene mutations at the Gene - Protein Research Center, Hanoi Medical University. With the objective of screening for deletional and nondeletional α -globin gene by using Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) method on eighty five people, whose spouses were α -thalassemia carriers, the results of this study have successfully identified 38/85 carriers including thirty five deletional carriers (26 --SEA, 5 - α ^{3.7}, 1 - α ^{4.2}, 1 --THAI, 1 whole α -globin deletion, and 1 *POLR3K-ITFG3* gene deletion) and 3 cases of non-deletional mutation (2 - α ^{HbCs}, 1 anti^{3.7}). Deletional mutations account for 92.1% while non-deletional mutations account for only 7.9%.

Keywords: α -thalassemia carrier, deletional mutation, Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA), nondeletional mutation.

Classification number: 3.1

đơn giản. Các đột biến điểm đã biết có thể được xác định bằng kỹ thuật ARMS-PCR hay phản ứng lai ngược RDB (Reverse dot blot). Sự ra đời của kỹ thuật MLPA với độ chính xác cao và kết quả nhanh chóng cho phép xác định toàn bộ đột biến xóa đoạn đã biết cũng như các đột biến xóa đoạn mới, đồng thời còn xác định các đột biến lặp đoạn và đột biến điểm HbCs - dạng đột biến thường gặp trong cụm gen α -globin. Xuất phát từ thực tiễn nêu trên, nghiên cứu này được tiến hành với mục tiêu phát hiện toàn bộ các đột biến xóa đoạn và một số đột biến không xóa đoạn trên cụm gen α -thalassemia bằng kỹ thuật MLPA.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Nhóm nghiên cứu gồm 85 người có vợ hoặc chồng được xác định là người lành mang đột biến gen α -globin có nhu cầu sàng lọc đột biến để tư vấn di truyền.

Mẫu đối chứng: 5 mẫu DNA của người trưởng thành khỏe mạnh, có công thức máu ngoại vi bình thường và được xác định không mang đột biến gen α -globin bằng phương pháp MLPA, Gap-PCR và giải trình tự gen.

Mẫu nghiên cứu được thu thập và thực hiện kỹ thuật MLPA phân tích đột biến gen tại Trung tâm Nghiên cứu Gen - Protein, Trường Đại học Y Hà Nội.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Kỹ thuật tách chiết DNA: DNA được tách từ mẫu máu toàn phần bằng bộ kit Wizard® Genomic DNA Purification Kit của Hãng Promega (Mỹ). Quy trình tách chiết tuân theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Kiểm tra nồng độ và độ tinh sạch của DNA sau tách chiết bằng phương pháp đo quang phổ trên máy NanoDrop: nồng độ DNA 80-200 ng/ μ l, đánh giá độ tinh sạch bằng tỷ lệ A260/A280 là 1,8-2,0.

Kỹ thuật MLPA: Nghiên cứu sử dụng bộ kit SALSA MLPA Probemix P140 HBA của Hãng MRC Holland (Hà Lan) dành cho chẩn đoán α -thalassemia. Thí nghiệm được thực hiện tuân theo quy trình chung của nhà sản xuất. Gồm các bước cơ bản như sau: khử RNA, gắn probe, nối các đoạn probe bằng enzyme ligase, khuếch đại các probe bằng phản ứng PCR, điện di sản phẩm trên hệ thống điện di mao quản ABI 3500 [5].

Kết quả MLPA được phân tích bằng phần mềm COFFALYSER để tính tỷ lệ đỉnh của mẫu nghiên cứu so với mẫu đối chứng được gọi là giá trị DQ (Dosage quotient - thương số của tín hiệu đỉnh mẫu nghiên cứu so với mẫu đối chứng). Những đỉnh có giá trị DQ trong khoảng 0,8-1,2 là bình thường; DQ=0 tương đương với đột biến mất đoạn đồng hợp tử; DQ trong khoảng 0,4-0,65 được xác định là xóa đoạn dị hợp tử; DQ>1,3 là có đột biến lặp đoạn [6].

Đạo đức nghiên cứu: Những người mang đột biến gen bệnh α -thalassemia tham gia vào nghiên cứu hoàn toàn tự nguyện. Họ được thông báo kết quả xét nghiệm gen và bảo mật thông tin cá nhân. Nghiên cứu đã được thông qua bởi Hội đồng đạo đức của Trường Đại học Y Hà Nội.

3. Kết quả

Áp dụng kỹ thuật MLPA để sàng lọc các đột biến trên cụm gen α -globin ở 85 người vợ/chồng đã có chồng/vợ được xác định là người lành mang đột biến gen gây bệnh,

ngiên cứu đã xác định được 38/85 (44,7%) các trường hợp là người lành mang gen gây bệnh. Các đột biến xác định được gồm 2 loại đột biến xóa đoạn và không xóa đoạn.

3.1. Đột biến xóa đoạn

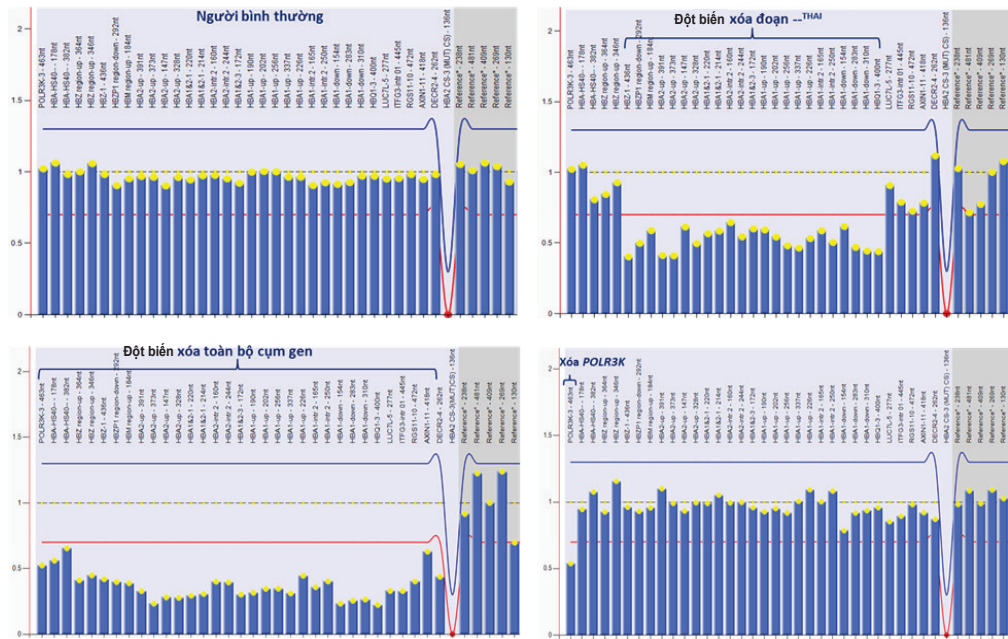
6 dạng đột biến xóa đoạn khác nhau đã được tìm thấy trong nghiên cứu gồm: 26 trường hợp mang đột biến --SEA; 5 trường hợp mang đột biến $-\alpha^{3.7}$; các đột biến --THAI, $-\alpha^{4.2}$, xóa toàn bộ vùng gen α -globin, xóa vùng gen điều hòa *POLR3K-ITFG3* tìm thấy 1 trường hợp mỗi loại. Kết quả phân tích MLPA của từng nhóm đột biến được thể hiện ở hình 1.

Kết quả MLPA của người bình thường cho thấy, các đỉnh của cụm gen α -globin có chiều cao đều nhau và giá trị DQ đều nằm trong giá trị bình thường (khoảng 0,7-1,3 theo như khuyến cáo của nhà sản xuất). Ở người mang đột biến --THAI các đỉnh từ *HBZ1* đến *HBQ1* có giá trị DQ 0,4-0,65, thấp hơn khoảng 1/2 so với người mang đột biến tương ứng với khoảng mất đoạn --THAI. Ở người mang đột biến xóa toàn bộ vùng gen α -globin, toàn bộ các đỉnh đều thấp hơn với nhóm chứng, trừ vùng gen nội chuẩn (Reference). Người mang đột biến xóa vùng gen điều hòa *POLR3K-ITFG3* thì đỉnh tương ứng với gen này có giá trị DQ chỉ bằng 1/2 người bình thường.

3.2. Đột biến không xóa đoạn

Có 3 trường hợp đột biến không xóa đoạn được phát hiện trong nghiên cứu, 2 trường hợp $-\alpha^{HbCs}$ và 1 trường hợp lặp đoạn vùng đột biến 3.7 nên được gọi là anti3.7 ($\alpha\alpha^{3.7}$). Kết quả được thể hiện ở hình 2.

Người mang đột biến $-\alpha^{HbCs}$ có kết quả MLPA gần giống với kết quả của nhóm chứng, giá trị DQ của các đầu dò đều nằm trong khoảng 0,7-1,3 nhưng xuất hiện thêm đỉnh *HBA2-CS* - người mang đột biến lặp đoạn.

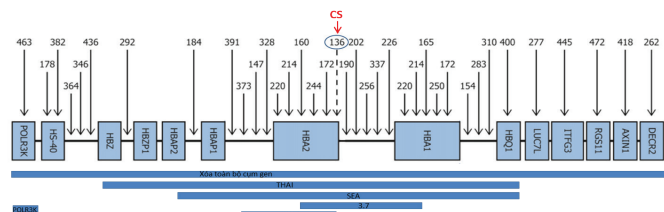


Hình 1. Hình ảnh MLPA một số đột biến xóa đoạn. Trục tung biểu thị giá trị DQ của các mẫu, trục hoành biểu thị các đỉnh của đầu dò trong bộ kit SALSA MLPA Probenix P140 HBA.



Hình 2. Hình ảnh MLPA của người mang đột biến $-\alpha^{HbCs}$ và đột biến lặp đoạn $\alpha\alpha^{3.7}$.

6 dạng đột biến xóa đoạn được tìm thấy trong nghiên cứu có vị trí tương ứng trên cụm gen α -globin được mô tả theo sơ đồ ở hình 3. Đột biến xóa toàn bộ cụm gen, --THAI, --SEA sẽ mất cả 2 gen *HBA1* và *HBA2*; đột biến $-\alpha^{3.7}$ làm mất một phần gen *HBA1* và 1 phần *HBA2*; đột biến $-\alpha^{4.2}$ chỉ mất gen *HBA2*. Đột biến $-\alpha^{HbCs}$ làm kéo dài chuỗi *HBA2*, còn



Hình 3. Sơ đồ vị trí các đột biến được tìm thấy trong nghiên cứu.

đột biến xóa đoạn *POLR3K-ITFG3* không làm thay đổi gen *HBA1* cũng như *HBA2*.

Tổng hợp kết quả MLPA của 85 người trong nhóm nghiên cứu được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả phát hiện đột biến trên gen α -globin.

Thứ tự	Kết quả	Số lượng	Trung bình MCV (fL)	Trung bình MCH (pg)
I	Dương tính	38 (44,7%)		
1	-- ^{SEA}	26	68,8	21,5
2	- $\alpha^{3.7}$	5	79,0	26,5
3	-- ^{THAI}	1	69,2	22,0
4	- $\alpha^{4.2}$	1	81,5	27,3
5	--	1	59,0	18,6
6	Xóa <i>POLR3K-ITFG3</i>	1	69,1	21,9
7	$\alpha\alpha^{3.7}$	1	79,6	27,5
8	- α^{HbCs}	2	81,9	27,4
II	Âm tính	47 (55,3%)		

MCH: lượng huyết sắc tố trung bình hồng cầu; MCV: thể tích trung bình hồng cầu.

Trong 38 trường hợp có kết quả MLPA dương tính, có 26 trường hợp mang đột biến --^{SEA} (chiếm 68,4%), 5 trường hợp mang đột biến - $\alpha^{3.7}$ (chiếm 13,2%), 2 trường hợp mang đột biến - α^{HbCs} (chiếm 5,3%), 5 dạng đột biến còn lại mỗi dạng chỉ có 1 trường hợp (chiếm 2,6%). Như vậy, đột biến xóa đoạn có tỷ lệ 92,1%, còn đột biến không xóa đoạn chỉ có tỷ lệ 7,9%. Các trường hợp mang đột biến không xóa đoạn hoặc chỉ xóa đoạn 1 gen α -globin thì lượng huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCH) và thể tích trung bình hồng cầu (MCV) giảm không đáng kể.

4. Bàn luận

Việt Nam là nước có tỷ lệ người mang gen α -thalassemia rất cao, phân bố ở cả 63 tỉnh/thành phố và 54 dân tộc. Tỷ lệ mang gen chung trên toàn quốc ước tính là 13,8% (khoảng 13-14 triệu người); sự phân bố của bệnh có tính dân tộc và địa lý rõ rệt [7]. Do đó, việc sàng lọc người lành mang đột biến gen gây bệnh là vô cùng quan trọng, đặc biệt là những gia đình đã có vợ hoặc chồng là người lành mang gen bệnh. Nghiên cứu đã phát hiện được 38/85 trường hợp mang đột biến gen α -globin với tỷ lệ cao 44,7% và 8 loại đột biến trong hơn 128 loại đột biến gen α -globin gây ra bệnh α -thalassemia đã được tìm thấy. Sự tương tác giữa các đột biến này có khả năng ngày càng tạo ra các kiểu hình khác nhau. Mức độ nghiêm trọng của bệnh tương quan chặt chẽ với việc giảm hoạt động của gen α -globin [2].

Việc nghiên cứu, phân tích gen để phát hiện các đột biến α -globin đã trải qua hơn 40 năm với sự phát triển vượt bậc, từ kỹ thuật Southern blotting đến khuếch đại PCR và giải trình tự cho phép xác định được hầu hết các đột biến gen *HBA*. Ngày nay, kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới (Next generation sequencing - NGS) ra đời cho phép xác định được toàn bộ các đột biến từ xóa đoạn, lặp đoạn, đột biến điểm hay thêm bớt một số nucleotide [8, 9]. Tuy nhiên, giá thành của kỹ thuật này chưa phù hợp với phần lớn các gia đình ở Việt Nam. MLPA được chọn làm kỹ thuật chính để xác định đột biến gen α -globin trong nghiên cứu vì có ưu điểm vượt trội so với các kỹ thuật thông thường khác: kỹ thuật Gap-PCR chỉ có thể xác định các đột biến mất đoạn đã biết và không thể xác định được các đột biến lặp đoạn hay đột biến điểm; kỹ thuật RDB cho phép xác định một số đột biến điểm đã biết. MLPA với độ nhạy và độ đặc hiệu cao, có thể xác định được toàn bộ các đột biến xóa đoạn và lặp đoạn kể cả đột biến xóa đoạn hiếm gặp hoặc mới phát sinh của các gen α -globin; ngoài ra MLPA còn có thể phát hiện được đột biến điểm phổ biến - α^{HbCs} [6, 10].

Đột biến xóa đoạn --^{SEA} chiếm tỷ lệ cao nhất trong nghiên cứu này (68,4%, với 26/38 mẫu có đột biến). Kết quả phù hợp với thực tế rằng, kiểu mất đoạn này là dạng đột biến phổ biến nhất ở Đông Nam Á, dẫn đến thiếu 2 gen quan trọng nhất của vùng gen α -globin là *HBA1* và *HBA2* trên nhiễm sắc thể 16. Các đột biến xóa đoạn lớn khác được tìm thấy là --^{THAI} và xóa toàn bộ vùng gen α -globin. Khi các đột biến xóa đoạn lớn kết hợp với nhau sẽ làm mất hoàn toàn 4 gen *HBA*, do đó không thể tổng hợp chuỗi α -globin. Thai nhi không may mắn mang các dạng đột biến trên sẽ sinh ra quá trình tự trùng hợp các chuỗi γ -globin trong bào thai, tạo ra Hb Bart's; loại α -thalassemia này không có khả năng giải phóng ôxy đến mô, gây phù thai, do đó thai nhi sẽ chết hoặc chỉ sống được một thời gian rất ngắn sau khi sinh [1, 3].

Các đột biến xóa một gen α -globin được tìm thấy của nghiên cứu bao gồm - $\alpha^{3.7}$, - $\alpha^{4.2}$ với tỷ lệ lần lượt là 5/38 (13,2%) và 1/38 (2,6%). Đột biến - $\alpha^{3.7}$ là phổ biến thứ hai sau --^{SEA}, dạng đột biến mất đoạn này tạo nên trình tự gen dung hợp *HBA2-HBA1* được quy ước là α^+ -thalassemia. Tiếp sau đó là đột biến - $\alpha^{4.2}$ làm xóa đoạn gen *HBA2*. Ở Campuchia tần số đột biến - $\alpha^{3.7}$ (0,167) là cao nhất, còn đột biến - $\alpha^{4.2}$ chỉ có tần số là 0,006 theo nghiên cứu của T. Munkongdee và cs (2016) [11], hay nghiên cứu của R. Azma và (2014) [12] trong các quần thể Malaysia thì đột biến - $\alpha^{3.7}$ chiếm tỷ lệ 6,2-29%, đột biến - $\alpha^{4.2}$ là 0-1,3%. Đột biến xóa đoạn gen *POLR3K-ITFG3*, gen đầu tiên của cụm α -globin không ảnh hưởng đến cấu trúc cũng như chức năng của gen *HBA1* và *HBA2*, các báo cáo trên thế giới cũng ít quan tâm đến vùng gen này, nhưng vì nằm ở vùng điều hòa nên nó có khả năng ảnh hưởng đến sự biểu hiện của các gen *HBA1* và *HBA2*.

2 dạng đột biến không xóa đoạn được tìm thấy trong nghiên cứu là đột biến điểm $-\alpha^{HbCs}$ và đột biến lặp đoạn $\alpha\alpha^{3.7}$. Đột biến $-\alpha^{HbCs}$ được gây ra bởi sự thay thế bộ ba TAA thành CAA ở vị trí codon kết thúc của gen *HBA2* (c.427T>C(*142Gln)), glutamin thay thế mã kết thúc làm kéo dài chuỗi protein α -globin tạo nên phân tử Hb không bền, dễ bị phân hủy. Đột biến này được tìm thấy ở 2 trường hợp trong tổng số 85 mẫu nghiên cứu. Ở Đông Nam Á, đột biến $-\alpha^{HbCs}$ đặc biệt phổ biến ở Thái Lan và Lào. Ở các nước khác trong khu vực Đông Nam Á, trong đó có Việt Nam, số liệu về tỷ lệ mang đột biến $-\alpha^{HbCs}$ trong dân số còn hạn chế [13]. Do vậy, việc nghiên cứu $-\alpha^{HbCs}$ trong cộng đồng là rất quan trọng. Tế bào hồng cầu có liên kết chuỗi globin $-\alpha^{HbCs}$ đã được chứng minh sẽ gây ra hiện tượng tán huyết. 2 trường hợp mang đột biến dị hợp tử của $-\alpha^{HbCs}$ không có bất kỳ triệu chứng lâm sàng nào của bệnh α -thalassemia, chỉ số MCV là 76,3 và 87,6 fL; chỉ số MCH là 26,1 và 28,6 pg hầu như bình thường hoặc giảm không đáng kể. Tuy nhiên, khi kết hợp với sự xóa đoạn $--^{SEA}$ có thể gây ra bệnh HbH. Vì vậy, việc xác định các đột biến trên đóng vai trò rất quan trọng trong việc tư vấn di truyền trước sinh và sàng lọc trước sinh. Đột biến lặp đoạn $\alpha\alpha^{3.7}$ tuy không ảnh hưởng đến việc sản xuất các chuỗi α -globin ở người bình thường, nhưng sẽ làm nghiêm trọng hơn kiểu hình ở bệnh nhân beta-thalassemia do sự mất cân bằng giữa α -globin và beta-globin [14]. Vì vậy, những trường hợp vợ/chồng phát hiện đột biến lặp đoạn gen alpha cần sàng lọc đột biến gen beta-thalassemia để tránh sinh con kết hợp đột biến 2 gen.

Những trường hợp MLPA âm tính, nếu có các chỉ số MCV<85 fL và MCH<28 pg cần thiết phải xác định thêm đột biến α -globin bằng phương pháp giải trình tự gen Sanger hoặc NGS, vì còn khoảng dưới 10% đột biến điểm trên cụm gen α -globin không thể phát hiện bằng phương pháp MLPA [4].

Những nghiên cứu ở nước ta gần đây cho thấy, thalassemia thực sự là vấn đề nghiêm trọng, đe dọa chất lượng dân số và giống nòi. Với tỷ lệ người lành mang gen bệnh cao, tỷ lệ thai nhi bị phù thai hoặc trẻ sinh ra bị bệnh thalassemia thể nặng là đáng báo động ở nhiều tỉnh/thành phố ở nước ta. Vì vậy, việc sàng lọc người mang gen bệnh là vô cùng cần thiết, nhất là với những cặp vợ chồng đã từng sinh con bệnh hoặc có một người đã được xác định là người lành mang gen để có những tư vấn di truyền thích hợp nhằm giảm tỷ lệ phù thai hoặc trẻ sinh ra bị bệnh thalassemia thể nặng.

5. Kết luận

Bằng kỹ thuật MLPA nghiên cứu đã phát hiện 38/85 (44,7%) trường hợp là người lành mang gen bệnh α -thalassemia, bao gồm: 26 trường hợp mang đột biến $--^{SEA}$ (chiếm 68,4%), 5 trường hợp mang đột biến $-\alpha^{3.7}$ (chiếm

13,2%), 2 trường hợp mang đột biến $-\alpha^{HbCs}$ (chiếm 5,3%), 5 dạng đột biến còn lại là $--^{THAI}$, $-\alpha^{4.2}$, xóa toàn bộ vùng gen α -globin, xóa *POLR3K-ITFG3* và anti3.7 ($\alpha\alpha^{3.7}$), mỗi dạng chỉ có 1 trường hợp chiếm tỷ lệ 2,6%. Đột biến xóa đoạn chiếm tỷ lệ 92,1%, còn đột biến không xóa đoạn là 7,9%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] L.P.W. Goh, E.T.J. Chong, P.C. Lee (2020), "Prevalence of alpha(α)-thalassemia in Southeast Asia (2010-2020): A meta-analysis involving 83,674 subjects", *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **17(20)**, DOI: 10.3390/ijerph17207354.
- [2] H. Tamary, O. Dgany (1993), "Alpha-thalassemia", *GeneReviews*®, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1435/>, accessed 3 August 2022.
- [3] C.L. Harteveld, D.R. Higgs (2010), " α -thalassaemia", *Orphanet J. Rare Dis.*, **5**, DOI: 10.1186/1750-1172-5-13.
- [4] I.K. Kwaifa, M.I. Lai, S.M. Noor (2020), "Non-deletional alpha thalassaemia: A review", *Orphanet J. Rare Dis.*, **15(1)**, DOI: 10.1186/s13023-020-01429-1.
- [5] MRC Holland (2018), *MLPA (Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification): General Protocol for The Detection and Quantification of DNA Sequences*, <https://www.mrcholland.com/products/4838/MLPA%20General%20Protocol%20MDP-v008.pdf>, accessed 3 August 2022.
- [6] Product Description P140-C1 HBA-v05.pdf (2022), <https://www.mrcholland.com/products/28741/Product%20Description%20P140-C1%20HBA-v05.pdf>, accessed 15 August 2022.
- [7] N.T.T. Ha, N.T. Van, N.M. Quan, et al. (2021), "Overview of thalassemia, current situation, risk and solutions to control thalassemia in Vietnam", *Vietnam Medical Journal*, **502**, pp.1-16 (in Vietnamese).
- [8] S. Farashi, C.L. Harteveld (2018), "Molecular basis of α -thalassaemia", *Blood Cells Mol. Dis.*, **70**, pp.43-53, DOI: 10.1016/j.bcmd.2017.09.004.
- [9] V. Brancaleoni, E.D. Pierro, I. Motta, et al. (2016), "Laboratory diagnosis of thalassemia", *Int. J. Lab. Hematol.*, **38(S1)**, pp.32-40, DOI: 10.1111/ijlh.12527.
- [10] D. Vijian, W.S.W.A. Rahman, K.T. Ponnuraj, et al. (2021), "Molecular detection of alpha thalassemia: A review of prevalent techniques", *Medeni. Med. J.*, **36(3)**, pp.257-269, DOI: 10.5222/MMJ.2021.14603.
- [11] T. Munkongdee, J. Tanakulmas, P. Butthep, et al. (2016), "Molecular epidemiology of hemoglobinopathies in Cambodia", *Hemoglobin*, **40(3)**, pp.163-167, DOI: 10.3109/03630269.2016.1158723.
- [12] R. Azma, A. Othman, H. Alauddin, et al. (2014), "Molecular characteristic of alpha thalassaemia among patients diagnosed in UKM medical centre", *Malays. J. Pathol.*, **36(1)**, pp.27-32.
- [13] W. Jomoui, G. Fucharoen, K. Sanchaisuriya, et al. (2015), "Hemoglobin constant spring among Southeast Asian populations: Haplotypic heterogeneities and phylogenetic analysis", *PLOS ONE*, **10(12)**, DOI: 10.1371/journal.pone.0145230.
- [14] C.L. Harteveld, C. Refaldi, E. Cassinerio, et al. (2008), "Segmental duplications involving the alpha-globin gene cluster are causing beta-thalassemia intermedia phenotypes in beta-thalassemia heterozygous patients", *Blood Cells Mol. Dis.*, **40(3)**, pp.312-316, DOI: 10.1016/j.bcmd.2007.11.006.