

Nghiên cứu sàng lọc sơ sinh bệnh thiếu enzyme Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) tại Bệnh viện Đa khoa Medlatec

Tạ Thị Lan Anh¹, Trịnh Thị Quế², Vũ Thị Hà¹, Đào Thị Thu Hiền³, Hoàng Thị Ngọc Lan¹, Đoàn Thị Kim Phượng^{1*}

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

²Bệnh viện Đa khoa Medlatec, 42 Nghĩa Dũng, phường Phúc Xá, quận Ba Đình, Hà Nội, Việt Nam

³Bệnh viện Phụ sản Trung ương, 43 Tràng Thi, phường Hàng Bông, quận Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 29/9/2023; ngày chuyển phản biện 2/10/2023; ngày nhận phản biện 25/10/2023; ngày chấp nhận đăng 27/10/2023

Tóm tắt:

Mục tiêu: Khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến hoạt độ enzyme Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) từ mẫu máu gót chân trẻ sơ sinh và phân tích kết quả sàng lọc một số trường hợp thiếu hụt enzyme G6PD. **Phương pháp nghiên cứu:** Mô tả cắt ngang hồi cứu và tiến cứu kết hợp mô tả ca bệnh. **Kết quả:** Nghiên cứu trên 3.223 trẻ thực hiện xét nghiệm sàng lọc sơ sinh máu gót chân từ tháng 9/2022 đến tháng 9/2023 cho thấy, tỷ lệ nguy cơ cao thiếu enzyme G6PD ở trẻ nam cao hơn đáng kể so với trẻ nữ. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh tỷ lệ trẻ có kết quả nguy cơ cao sàng lọc ở nhóm trẻ dân tộc Mường và các dân tộc thiểu số khác so với nhóm trẻ dân tộc Kinh ($p < 0,01$). Giữa các nhóm ngày tuổi lấy mẫu và cân nặng khác nhau, tỷ lệ trẻ có hoạt độ enzyme ở ngưỡng nguy cơ cao thiếu enzyme G6PD không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Đột biến gặp trong nghiên cứu là G6PD Union (c.1360C>T) (p.Arg454Cys), hoạt độ enzyme giảm <10%, tương ứng với mức độ thiếu enzyme Class II. **Kết luận:** Yếu tố giới tính và dân tộc của trẻ có mối liên quan với hoạt độ enzyme ở các ngưỡng nguy cơ thiếu enzyme G6PD. Nghiên cứu mối tương quan giữa kiểu gen G6PD và kiểu hình có ý nghĩa rất lớn trong việc tư vấn di truyền, dự đoán tiên lượng và quản lý tình trạng thiếu enzyme G6PD.

Từ khóa: đột biến, thiếu G6PD, trẻ sơ sinh, tư vấn di truyền.

Chỉ số phân loại: 3.1

1. Đặt vấn đề

Thiếu enzyme G6PD là một trong những bệnh lý enzyme phổ biến nhất ở người, ảnh hưởng đến hàng triệu người trên toàn thế giới [1]. Bệnh do đột biến trên gen *G6PD*, di truyền liên kết với nhiễm sắc thể X tạo nên nhiều kiểu hình lâm sàng và sinh hóa. Biểu hiện thường gặp nhất của tình trạng thiếu hụt enzyme G6PD là thiếu máu, tan máu cấp tính và vàng da sơ sinh, thường do tác nhân oxy hóa ngoại sinh gây ra. Sàng lọc sơ sinh bệnh thiếu enzyme G6PD đóng vai trò quan trọng trong việc phòng và điều trị tan máu, vàng da sơ sinh kịp thời, hạn chế biến chứng vàng da nhân não - biến chứng không hồi phục, để lại di chứng chậm phát triển tâm thần vận động và trở thành gánh nặng cho cả gia đình và xã hội. Từ năm 2015, chương trình sàng lọc sơ sinh bệnh thiếu enzyme G6PD đã được mở rộng triển khai tại nhiều cơ sở y tế Việt Nam, nhưng các nghiên cứu về sàng lọc sơ sinh đối với bệnh thiếu enzyme G6PD vẫn còn hạn chế. Vì vậy chúng tôi thực hiện: “Nghiên cứu sàng lọc sơ sinh bệnh thiếu enzyme G6PD tại Bệnh viện Đa khoa Medlatec” với 2 mục tiêu: 1) Khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến hoạt độ enzyme G6PD từ mẫu máu gót chân trẻ sơ sinh; 2) Phân tích kết quả sàng lọc một số trường hợp thiếu hụt enzyme G6PD từ mẫu máu gót chân trẻ sơ sinh.

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

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Nghiên cứu mô tả cắt ngang hồi cứu kết hợp tiến cứu trên 3.223 trẻ được lấy máu gót chân tham gia sàng lọc bệnh thiếu enzyme G6PD, có đầy đủ dữ liệu về các yếu tố liên quan trong thời gian từ tháng 9/2022 đến tháng 9/2023.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tất cả các mẫu được định lượng hoạt độ enzyme G6PD bằng kỹ thuật bán định lượng sử dụng bộ kit Neonatal G6PD ND-1000 của Hãng SISC trên hệ thống máy đo miễn dịch huỳnh quang Victor 2D. Hoạt độ enzyme $\leq 2,6$ U/gHb được phân loại nhóm nguy cơ cao thiếu enzyme G6PD; $> 2,6$ U/gHb: nhóm nguy cơ thấp thiếu enzyme G6PD.

Các chỉ số giới tính, tuổi lấy mẫu, cân nặng lúc sinh, dân tộc được phân nhóm và tìm mối liên quan với ngưỡng hoạt độ cao thấp của G6PD. Mô tả ca bệnh một số trường hợp dương tính với sàng lọc được xét nghiệm định lượng hoạt độ G6PD máu tĩnh mạch và xác định đột biến trên gen *G6PD* bằng phương pháp giải trình tự gen thế hệ mới. Sử dụng các kiểm định χ^2 với các biến định tính. Xử lý số liệu theo phương pháp thống kê y sinh học bằng phần mềm SPSS 20.0.

Research of newborn screening of Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency at Medlatec General Hospital

Thi Lan Anh Ta¹, Thi Que Trinh², Thi Ha Vu¹,
Thi Thu Hien Dao³, Thi Ngoc Lan Hoang¹,
Thi Kim Phuong Doan^{1*}

¹Hanoi Medical University,

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

²Medlatec General Hospital,

⁴² Nghia Dung Street, Phuc Xa Ward, Ba Dinh District, Hanoi, Vietnam

³National Hospital of Obstetrics and Gynecology,

⁴³ Trang Thi Street, Hang Bong Ward, Hoan Kiem District, Hanoi, Vietnam

Received 29 September 2023; revised 25 October 2023; accepted 27 October 2023

Abstract:

Objective: Survey some factors affecting Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) enzyme activity from newborn heel blood samples and analyse screening results of some cases of G6PD enzyme deficiency. **Research method:** Retrospective and prospective cross-sectional description combined with case description. **Results:** Research on 3223 children who performed the newborn heel blood screening test from September 2022 to September 2023 showed that the high-risk rate of G6PD enzyme deficiency in boys is significantly higher than in girls. The difference is statistically significant when comparing the proportion of neonates with high-risk screening results in the Muong ethnic group and other ethnic minorities compared to the Kinh ethnic group ($p < 0.01$). Between different sampling age groups and different weight groups, the proportion of children with enzyme activity at the high-risk threshold for G6PD enzyme deficiency did not have a statistically significant difference ($p > 0.05$). The mutation encountered in the study was G6PD Union (c.1360C>T) (p.Arg454Cys), the enzyme activity decreased by <10% corresponding to the level of class II enzyme deficiency, showing mild hemolysis and no severe consequences in infancy. **Conclusion:** Children's gender and ethnicity are related to enzyme activity at risk thresholds for G6PD enzyme deficiency. Studying the correlation between genotype and phenotype is of great significance in genetic counselling, predicting prognosis and managing G6PD enzyme deficiency.

Keywords: genetic counselling, Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, deficiency, mutations, newborns.

Classification number: 3.1

3. Kết quả

3.1. Một số yếu tố của trẻ sơ sinh liên quan đến kết quả xét nghiệm sàng lọc bệnh thiếu enzyme G6PD

Kết quả bảng 1 cho thấy, tỷ lệ trẻ sơ sinh nam có hoạt độ enzyme G6PD thuộc nhóm nguy cơ cao có sự khác biệt đáng kể so với trẻ sơ sinh nữ, với độ tin cậy 95% ($p < 0,05$).

Bảng 1. Mối liên quan giữa giới tính và hoạt độ enzyme tại các ngưỡng nguy cơ thiếu enzyme G6PD.

Giới tính	Hoạt độ enzyme tại ngưỡng	Nguy cơ cao		Nguy cơ thấp		p
		Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
Nam		81	5,1	1497	94,9	$p < 0,05$
Nữ		60	3,6	1585	96,4	
Tổng		141		3082		

Tỷ lệ trẻ có hoạt độ enzyme tại ngưỡng nguy cơ cao thiếu enzyme G6PD tại các nhóm cân nặng <2.500 g, ≥2.500 g lần lượt là 5,0 và 4,4% (bảng 2). Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa tỷ lệ trẻ có hoạt độ enzyme G6PD ở nhóm nguy cơ cao và thấp ở các nhóm trẻ phân nhóm cân nặng khác nhau với độ tin cậy 95% ($p > 0,05$).

Bảng 2. Mối liên quan giữa cân nặng khi sinh và hoạt độ enzyme tại các ngưỡng nguy cơ thiếu enzyme G6PD.

Cân nặng	Hoạt độ enzyme tại ngưỡng	Nguy cơ cao		Nguy cơ thấp		p
		Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
<2.500 g		6	5,0	115	95,0	$p > 0,05$
≥2.500 g		135	4,4	2967	95,6	
Tổng		141		3082		

Kết quả bảng 3 cho thấy, tỷ lệ trẻ có hoạt độ enzyme G6PD tại ngưỡng nguy cơ cao ở các nhóm ngày tuổi <2 ngày, 2-3 ngày, 4-7 ngày, 8-30 ngày lần lượt là 3,4, 4,4, 5,4 và 4,3%. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% ($p > 0,05$).

Bảng 3. Mối liên quan giữa tuổi được sàng lọc và hoạt độ enzyme G6PD tại các ngưỡng nguy cơ thiếu enzyme G6PD.

Ngày tuổi	Hoạt độ enzyme tại ngưỡng	Nguy cơ cao		Nguy cơ thấp		p
		Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
<2 ngày		22	3,4	618	96,6	$p > 0,05$
2-3 ngày		86	4,4	1851	95,6	
4-7 ngày		25	5,4	435	94,6	
8-30 ngày		8	4,3	178	95,7	
Tổng số		141		3082		

Bảng 4. Mối liên quan giữa dân tộc và hoạt độ enzyme tại các ngưỡng nguy cơ thiếu enzyme G6PD.

Dân tộc	Hoạt độ enzyme tại ngưỡng	Nguy cơ cao		Nguy cơ thấp		p
		Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
Kinh		93	3,2	2772	96,8	p<0,01
Mường		38	13,4	246	86,6	
Các dân tộc thiểu số khác		10	13,5	64	86,5	
Tổng		141		3082		

Tỷ lệ trẻ dân tộc Kinh có nguy cơ cao thiếu enzyme G6PD thấp hơn so với nhóm trẻ thuộc dân tộc Mường và các dân tộc thiểu số khác, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$ (bảng 4).

3.2. Phân tích một số kết quả sàng lọc thiếu hụt enzyme G6PD bằng mẫu máu gót chân thấm khô

Bảng 5. Hoạt độ enzyme G6PD trong mẫu máu thấm khô của trẻ sơ sinh được sàng lọc.

Kết quả sàng lọc	n	Tỷ lệ (%)	Hoạt độ enzyme G6PD (U/gHb)		
			Min	Max	Trung vị
Nguy cơ cao thiếu G6PD	141	4,4	0,1	2,6	1,1
Nguy cơ thấp thiếu G6PD	3.082	95,6	2,7	50,0	4,9
Tổng	3.223	100			

Kết quả ở bảng 5 cho thấy, với 3.223 trẻ sơ sinh được thống kê trong nghiên cứu, 141 trẻ sơ sinh thuộc nhóm nguy cơ cao thiếu enzyme G6PD, chiếm tỷ lệ 4,4% so với nhóm nguy cơ thấp là 95,6%. Trong đó, ở nhóm nguy cơ thấp thiếu enzyme G6PD có trung vị hoạt độ là 4,9 U/gHb, hoạt độ dao động trong khoảng 2,7-50 U/gHb. Ở nhóm nguy cơ cao thiếu enzyme G6PD, hoạt độ enzyme có trung vị là 1,1 U/gHb, với hoạt độ thấp nhất là 0,1 U/gHb và cao nhất là 2,6 U/gHb.

Hoạt độ G6PD máu gót chân sàng lọc sơ sinh và hoạt độ G6PD máu tĩnh mạch đều giảm $< 10\%$, các trẻ đều là nam người dân tộc Mường và đều phát hiện biến thể gây bệnh c.1360C>T trên gen *G6PD* (bảng 6).

Bảng 6. Hoạt độ G6PD máu gót chân, máu tĩnh mạch và kết quả xét nghiệm gen của một số trẻ trong nhóm nguy cơ cao thiếu enzyme G6PD.

Mã bệnh nhân	Giới	Tuổi (tháng)	Dân tộc	Hoạt độ G6PD máu gót chân (U/gHb)	Hoạt độ G6PD máu tĩnh mạch (U/gHb)	Biểu hiện lâm sàng giai đoạn sơ sinh	Biến thể <i>G6PD</i>
1		2		0,40	0,02	Không có hiện tượng vàng da bệnh lý	Bản hợp tử biến thể: c.1360C>T (p.Arg454Cys)
2		3		0,10	0,14	Không có hiện tượng vàng da bệnh lý	
3	Nam	7	Mường	0,10	0,10	Không có hiện tượng vàng da bệnh lý	
4		3		0,30	0,02	Vàng da kéo dài 1 tháng tự hết, không điều trị gì	
5		3,5		0,10	0,09	Vàng da kéo dài, điều trị chiếu đèn 5 ngày	

4. Bàn luận

Nghiên cứu trên 3.223 trẻ được sàng lọc máu gót chân bệnh thiếu enzyme G6PD cho thấy, trẻ nam có tỷ lệ nguy cơ thiếu men G6PD cao hơn so với trẻ nữ ($p < 0,05$). Điều này phù hợp với sự di truyền liên kết X của gen *G6PD*, nam giới (XY) có tỷ lệ biểu hiện bệnh cao hơn nữ giới (XX).

Trong nghiên cứu của chúng tôi, mối liên quan giữa hoạt độ enzyme G6PD tại các ngưỡng nguy cơ thiếu enzyme G6PD và yếu tố cân nặng khi sinh có sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Điều này chứng minh rằng, yếu tố cân nặng có thể không liên quan đến nguy cơ thiếu enzyme G6PD. Kết quả này cũng tương đồng với nghiên cứu sàng lọc bệnh thiếu enzyme G6PD của H.V.Q. Vu và cs (2022) [2] trên 4.544 trẻ sơ sinh tại Bệnh viện Phụ sản TP Cần Thơ và S. Bisoi và cs (2012) [3] trên 109 trẻ sơ sinh tại Bệnh viện West Bengal. Thêm vào đó, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa tỷ lệ trẻ có hoạt độ G6PD tại ngưỡng nguy cơ thấp và cao ở các nhóm ngày tuổi khác nhau. Điều này gợi ý việc lấy mẫu sàng lọc G6PD ở các nhóm ngày tuổi trong thời gian 30 ngày không làm nhiều kết quả sàng lọc. Mặc dù hoạt độ enzyme không bị ảnh hưởng bởi các yếu tố này nhưng việc thực hiện lấy mẫu gót chân sàng lọc sơ sinh vào ngày thứ 2-3 sau sinh vẫn cần thiết để phát hiện bệnh sớm, tư vấn nguy cơ và sàng lọc cùng với nhóm bệnh chuyển hóa khác (suy giáp bẩm sinh, tăng sản thượng thận bẩm sinh...).

Kết quả một nghiên cứu khác cho thấy, tỷ lệ thiếu enzyme G6PD rất khác nhau giữa các dân tộc và vùng địa lý, đặc biệt là vùng dịch tễ sốt rét [1]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, dân tộc Mường chiếm tỷ lệ cao thứ 2, chỉ sau dân tộc Kinh, nhưng tỷ lệ nguy cơ cao thiếu enzyme G6PD cao gấp 4 lần. Ngoài ra, các dân tộc khác như Thái, Tày... cũng chiếm tỷ lệ cao trong nhóm nguy cơ cao. Như vậy, trong nghiên cứu này, sự phân bố nguy cơ cao thiếu enzyme G6PD tập trung chủ yếu ở các dân tộc thiểu số khu vực miền núi phía Bắc.

Nghiên cứu trên 5 mẫu sàng lọc nguy cơ cao đã phát hiện được đột biến trên gen *G6PD*. Điều thú vị là cả 5 mẫu đều mang cùng một loại biến thể c.1360C>T (p.Arg454Cys). Đây cũng là đột biến phổ biến nhất ở dân tộc Mường, tên

gọi khác là G6PD Union [4]. Biến thể thay thế nucleotide tại vị trí c.1360C>T làm biến đổi acid amin Arginin thành Cystein đã được chứng minh có liên quan đến khả năng ổn định nhiệt của protein và làm giảm khả năng xúc tác của enzyme [5]. G6PD Union được phân loại gây bệnh trên hệ thống ClinVar và Hiệp hội Di truyền Y khoa Hoa Kỳ (ACMG). Đột biến làm giảm hoạt độ enzyme G6PD <10%, thuộc Class II theo phân loại của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) về mức độ thiếu enzyme và biểu hiện lâm sàng [6, 7].

Hoạt độ enzyme G6PD biểu hiện mức độ thiếu hụt khác nhau tùy thuộc vào vị trí đột biến và giới tính. Khi mang cùng biến thể, người nam bán hợp tử (hemizygot) và người nữ đồng hợp tử (homozygot) không có sự khác biệt về hoạt độ enzyme, tuy nhiên người nữ dị hợp tử (heterozygot) có mức độ biểu hiện đa dạng, hoạt độ enzyme chủ yếu trong khoảng 30-60% hoạt độ bình thường, xếp vào Class III [8]. Điều này được giải thích bởi sự bất hoạt nhiễm sắc thể X, hoạt độ G6PD phụ thuộc vào tỷ lệ tế bào hồng cầu bị thiếu hụt enzyme. Trong nghiên cứu của chúng tôi, các trẻ nam bán hợp biến thể G6PD Union có hoạt độ enzyme ở mức <10% (0,02-0,14 U/gHb) thuộc Class II, có biểu hiện lâm sàng là thiếu hụt enzyme mức độ nặng, có thể có các đợt tan máu cấp khi tiếp xúc với các tác nhân oxy hóa mạnh (thuốc chống sốt rét, đậu fava...) hoặc nhiễm trùng, tuy vậy cùng là biến thể này, hoạt độ enzyme ở người nam trưởng thành là $0,68 \pm 0,39$ U/gHb (<10%), của người nữ trưởng thành dị hợp tử ở nghiên cứu của Y. He và cs (2020) [8] là $4,63 \pm 2,77$ U/gHb, thuộc Class III, thiếu hụt mức độ nhẹ hơn, có thể có tình trạng tan máu cấp tính khi tiếp xúc với các tác nhân oxy hóa [8]. Với 5 trẻ có đột biến, ở giai đoạn sơ sinh các biểu hiện tan máu chưa để lại hậu quả nghiêm trọng nhưng những trẻ này vẫn cần khám định kỳ, tư vấn chế độ ăn uống và chế độ dùng thuốc để hạn chế những đợt tan máu cấp biểu hiện khi tiếp xúc với các tác nhân oxy hóa mạnh.

5. Kết luận

Kết quả sàng lọc sơ sinh nguy cơ cao thiếu enzyme G6PD gặp nhiều hơn ở trẻ nam và dân tộc thiểu số. Các yếu tố cân nặng khi sinh, ngày tuổi lấy mẫu không ảnh hưởng đến sự khác biệt của nguy cơ sàng lọc bệnh thiếu enzyme G6PD.

Đột biến gặp phổ biến trong nghiên cứu là G6PD Union, tương ứng với mức độ thiếu enzyme Class II (WHO), biểu hiện tan máu chưa để lại hậu quả nghiêm trọng ở giai đoạn sơ sinh, tuy nhiên người bệnh vẫn cần được tư vấn về nguy cơ tan máu khi sử dụng thuốc, thực phẩm có tính oxy hóa mạnh. Nghiên cứu mối tương quan giữa kiểu gen và kiểu hình có ý nghĩa rất lớn trong việc tư vấn di truyền, dự đoán tiên lượng và quản lý tình trạng thiếu enzyme G6PD.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] L. Luzzatto, M. Ally, R. Notaro (2020), “Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency”, *Blood*, **136(11)**, pp.1225-1240, DOI: 10.1182/blood.2019000944.
- [2] H.V.Q. Vu, T.N. Dung (2022), “Rate of G6PD deficiency and some related factors in newborns at Can Tho City Obstetrics Hospital in 2021-2022”, *Journal of Medical Research*, **516(1)**, DOI: 10.51298/vmj.v516i1.2938 (in Vietnamese).
- [3] S. Bisoi, S. Chakraborty, D. Chattopadhyay, et al. (2012), “Glucose-6-phosphate dehydrogenase screening of babies born in a tertiary care hospital in West Bengal”, *Indian J. Public Health*, **56(2)**, pp.146-148, DOI: 10.4103/0019-557X.99908.
- [4] T.H. Thinh, N.T. Thao, T.V. Khanh (2022), “Determination of G6PD gene mutation in patients of the Muong ethnic group with G6PD enzyme deficiency”, *Journal of Medical Research*, **514(2)**, DOI: 10.51298/vmj.v514i2.2599 (in Vietnamese).
- [5] X.T. Wang, V.M.S. Lam, P.C. Engel (2005), “Marked decrease in specific activity contributes to disease phenotype in two human Glucose 6-phosphate dehydrogenase mutants, G6PD_{Union} and G6PD_{Andalus}”, *Hum. Mutat.*, **26(3)**, DOI: 10.1002/humu.9367.
- [6] S.R. Richardson, G.F. O’Malley (2022), “Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency”, *Bull. World Health Organ.*, **67(6)**, pp.601-611.
- [7] Malaria Policy Advisory Group Meeting (2022), *Technical Consultation to Review The Classification of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G6PD)*, Switzerland Background document for Session 2, 20pp.
- [8] Y. He, Y. Zhang, X. Chen, et al. (2020), “Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in the Han Chinese population: Molecular characterization and genotype-phenotype association throughout an activity distribution”, *Sci. Rep.*, **10**, DOI: 10.1038/s41598-020-74200-y.