

## ỨNG DỤNG SINH HỌC PHÂN TỬ TRONG CHẨN ĐOÁN TRƯỚC SINH



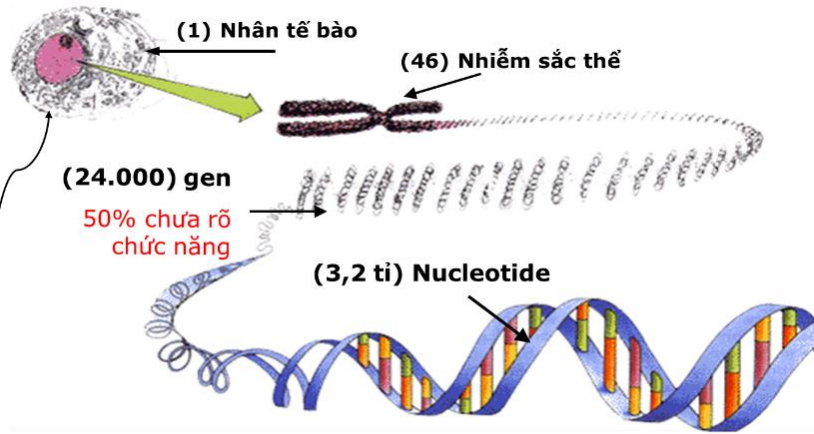
**TS. BS. NGUYỄN KHẮC HÂN HOAN**

✉ [drhoan@gmail.com](mailto:drhoan@gmail.com) ☎ 08 8888 4400

### Mục tiêu

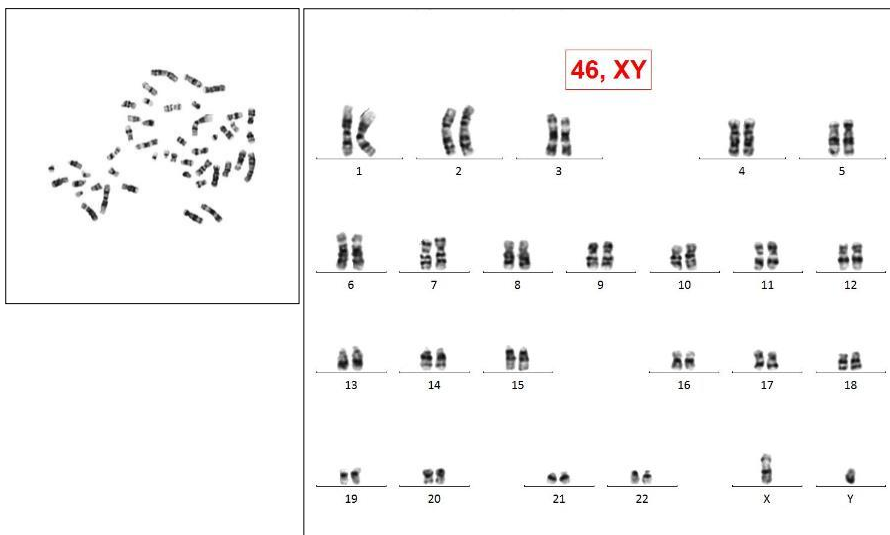
- Kể được 3 xét nghiệm nhiễm sắc thể
- Kể được 3 xét nghiệm bệnh gen
- Mô tả cơ chế gây trisomy 21 tự phát ở thai
- Kể tên 3 xét nghiệm lệch bội nhiễm sắc thể

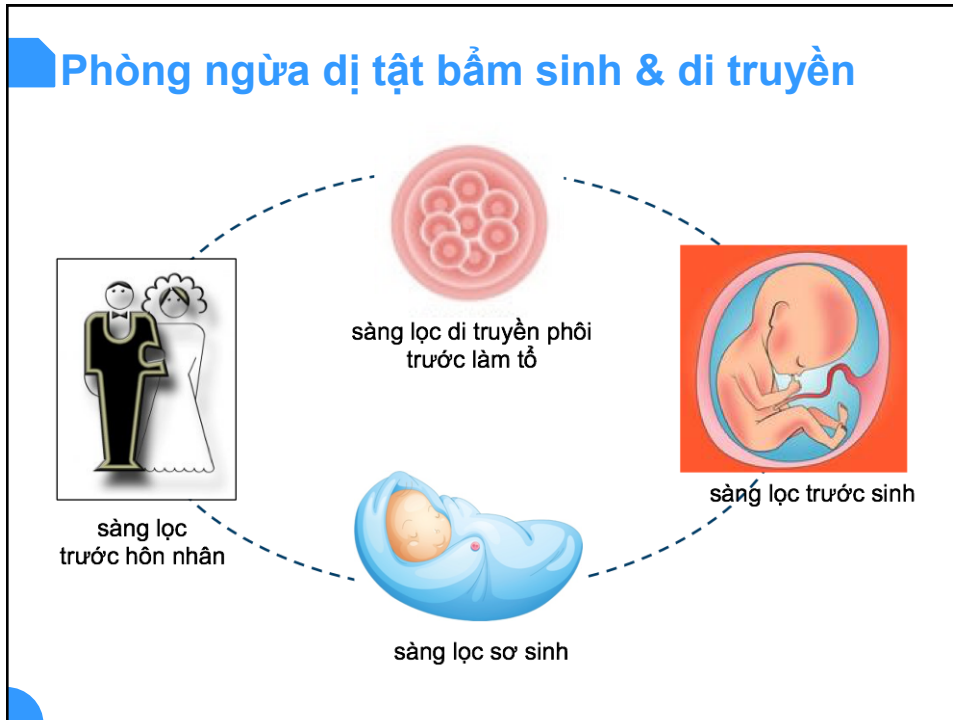
## Bộ gen người



Có rất nhiều ti thể, Mỗi ti thể: có 37 gen

## Bộ nhiễm sắc thể người – Karyotype

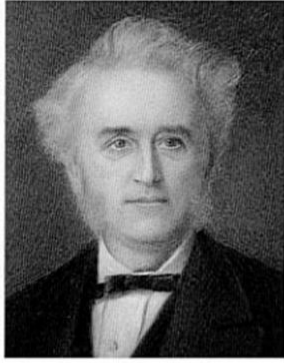




XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN

**BẤT THƯỜNG NHIỄM SẮC THỂ**

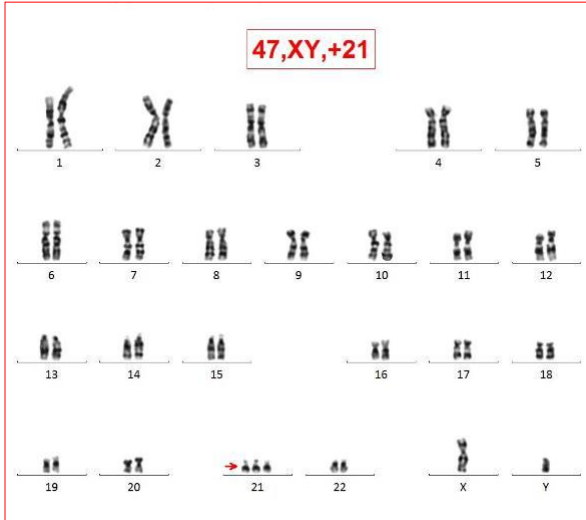
## Hội chứng Down – Trisomy 21

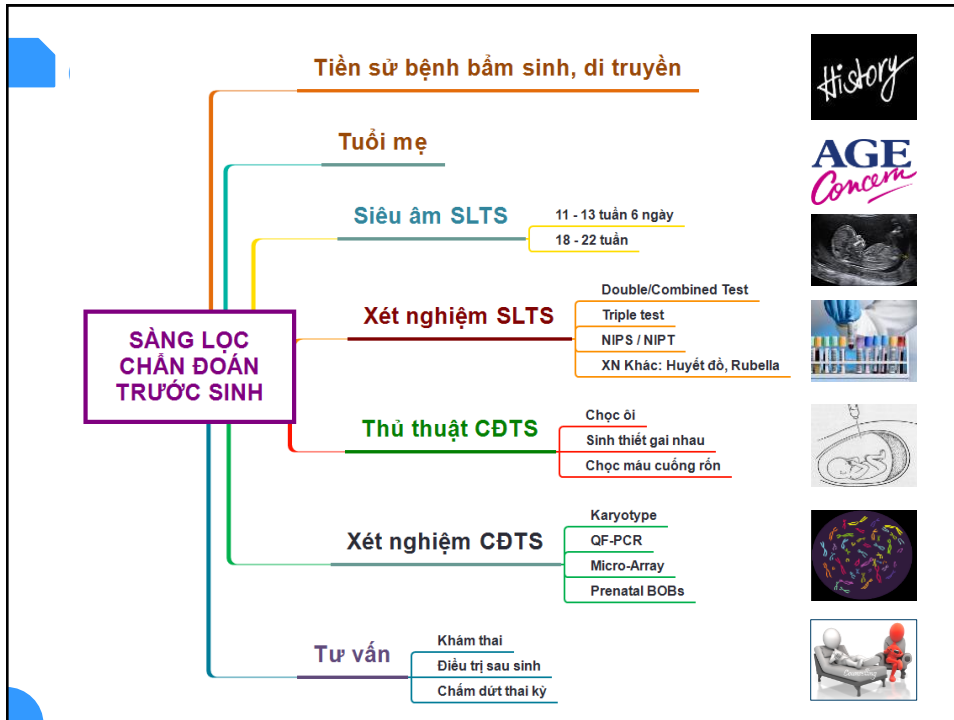


John Langdon Down  
(1828 – 1896)




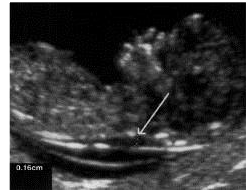


## Bộ nhiễm sắc thể, Trisomy 21





## XÉT NGHIỆM Combined test

Thai 11 tuần – 13 tuần 6 ngày (CĐĐM: 45 – 84mm)

<p><b>DOUBLE TEST</b> PAPP-A +free bhCG</p>  <p>65%</p> <p>Xương mũi</p>	+	<p><b>NT</b> Nuchal Translucency</p>  <p>77%</p>	=	<p><b>COMBINED TEST</b></p>   <p>90%</p> <p>(Dương tính giả: 5%)</p>
---	---	---	---	---

## Triple test

Thai 14 tuần – 20 tuần 6 ngày (ĐKLĐ: 26 – 49mm)

uE3 + AFP + free beta hCG

**Độ nhạy 64%**  
(Dương tính giả 5%)



## Thiếu thông tin Cân nặng (40kg), nguy cơ CAO

### COMBINED TEST

MSXN: TUDU1

Họ tên: NGUYỄN THỊ LỆ Ngày sinh: 26/05/1988  
 Địa chỉ: TIỀN GIANG Tuổi lúc sinh: 31.46  
 BS chỉ định: Hút thuốc lá: không Tiểu đường: Không Chủng tộc: Châu Á Số thai: 1  
 Tuổi thai: 11 tuần 4 ngày Cân nặng: 40 kg Ngày lấy mẫu: 24/04/2019 CRL: 52mm (24/04/2019)

### KẾT QUẢ

Xét nghiệm	Nồng độ	MoM hiệu chỉnh	
free hCG	120 ng/mL	1.55	<b>PAPP-A giảm rất thấp</b>
NT (Nuchal Translucency)	1.5 mm	1.10	
PAPP-A	1005 mU/L	0.26	

**PHƯƠNG PHÁP** Miễn dịch huỳnh quang kéo dài AutoDELFIA và LifeCycle (PerkinElmer)

### ĐÁNH GIÁ NGUY CƠ TRISOMY

#### Hội chứng Down (Trisomy 21)

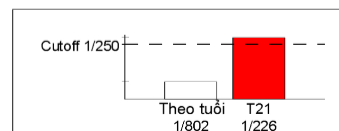
Kết quả: **NGUY CƠ CAO**

Nguy cơ theo tuổi thai phụ 1/802

Nguy cơ theo xét nghiệm 1/226

Nguy cơ Hội chứng Down 1/226 có nghĩa là trong 226 thai phụ có thể có 1 thai phụ sinh con có hội chứng Down.

ĐỀ NGHỊ CHỌN ỚI HOẶC XÉT NGHIỆM NIPT KIỂM TRA



## Tuổi thai 13 tuần 4 ngày, nguy cơ CAO

### COMBINED TEST

MSXN: TUDU3

Họ tên: **VÕ THỊ THÚY**

Ngày sinh: 08/03/1991

Địa chỉ: **QUẬN 1**

Tuổi lúc sinh: 28.64

BS chỉ định:

Số HS nơi gửi:

Hút thuốc lá: không

Tiểu đường: Không

Chủng tộc: Châu Á

Số thai: **1**Tuổi thai: **13 tuần 4 ngày**

Cân nặng: 45 kg

Ngày lấy mẫu: 24/04/2019 CRL: 80mm (24/04/2019)

### KẾT QUẢ

Xét nghiệm	Nồng độ	MoM hiệu chỉnh	
free $\beta$ HCG	120 ng/mL	<b>2.55</b>	<b>Fb HCG tăng cao</b>
NT (Nuchal Translucency)	1.5 mm	<b>0.86</b>	
PAPP-A	1005 mU/L	<b>0.14</b>	

**PHƯƠNG PHÁP** Miễn dịch huỳnh quang kéo dài AutoDELFIA và LifeCycle (PerkinElmer)

### ĐÁNH GIÁ NGUY CƠ TRISOMY

#### Hội chứng Down (Trisomy 21)

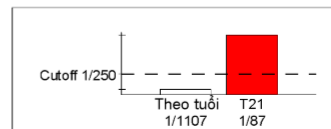
Kết quả: **NGUY CƠ CAO**

Nguy cơ theo tuổi thai phụ 1/1107

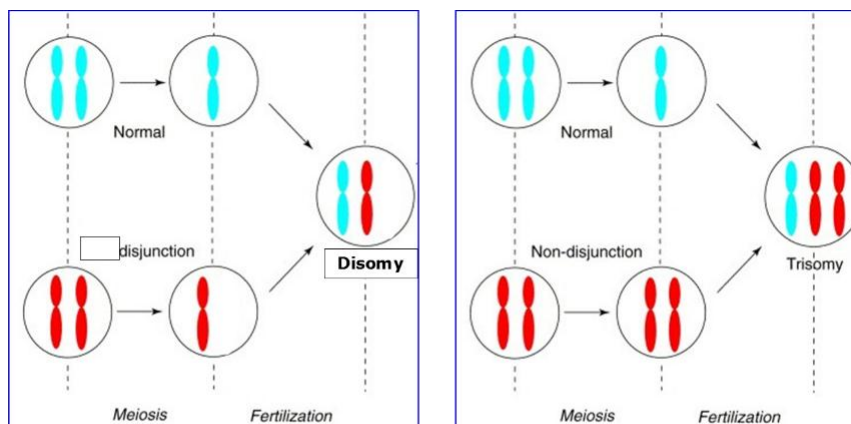
Nguy cơ theo xét nghiệm 1/87

Nguy cơ Hội chứng Down 1/87 có nghĩa là trong 87 thai phụ có thể có 1 thai phụ sinh con có hội chứng Down.

**ĐỀ NGHỊ CHỌC ỒI HOẶC XÉT NGHIỆM NIPT KIỂM TRA**



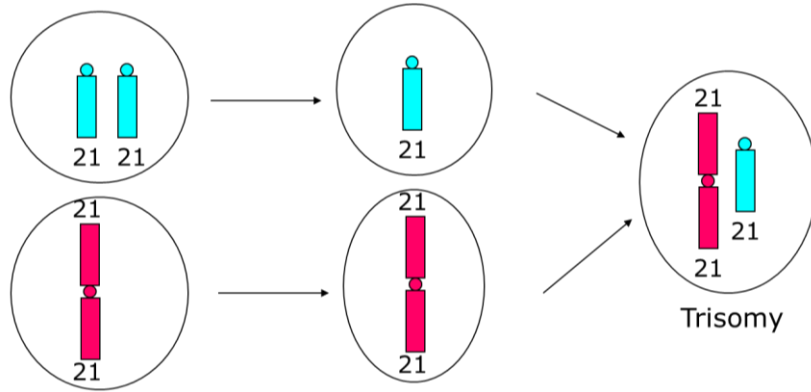
## Tại sao cha mẹ bình thường, con trisomy 21 ?



**95% HC Down do đột biến NST ngẫu nhiên**

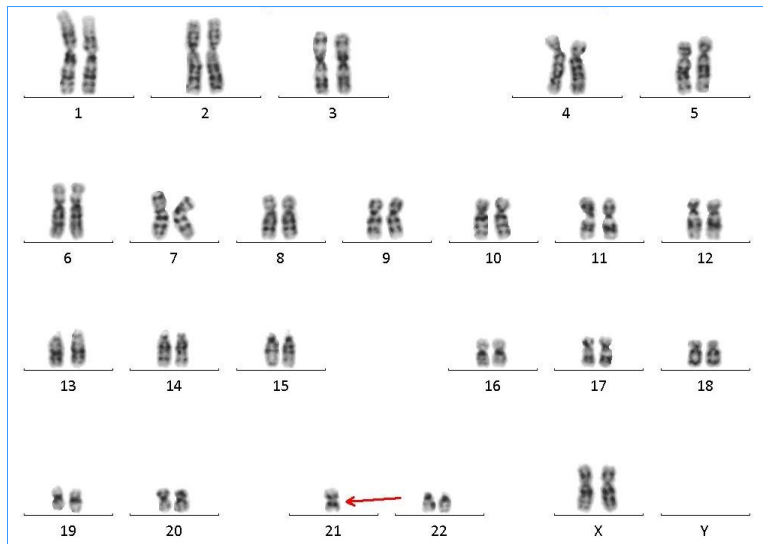
90% trong quá trình tạo trứng, 10% tạo tinh trùng

## Con thừa kế bất thường từ cha mẹ



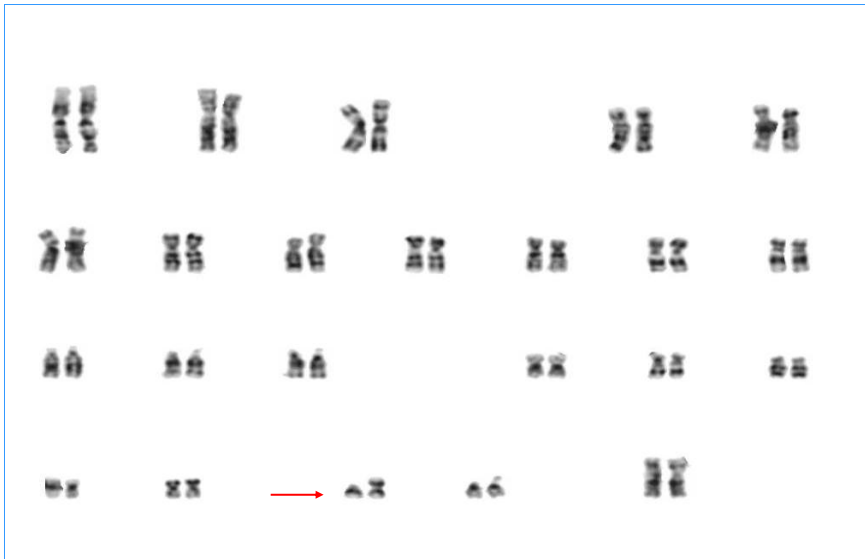
**Robertsonian Translocation – Chuyển đoạn hòa nhập tâm**

## NST 21 hòa nhập tâm: Khả năng con HC Down 100%

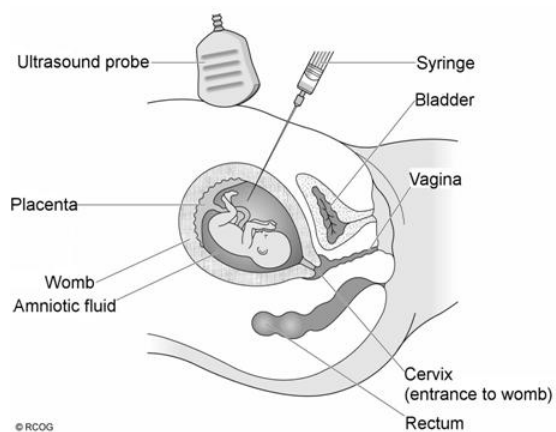




## Thai HC Down, 46,XX,rob(21;21)(q10;q10),+21

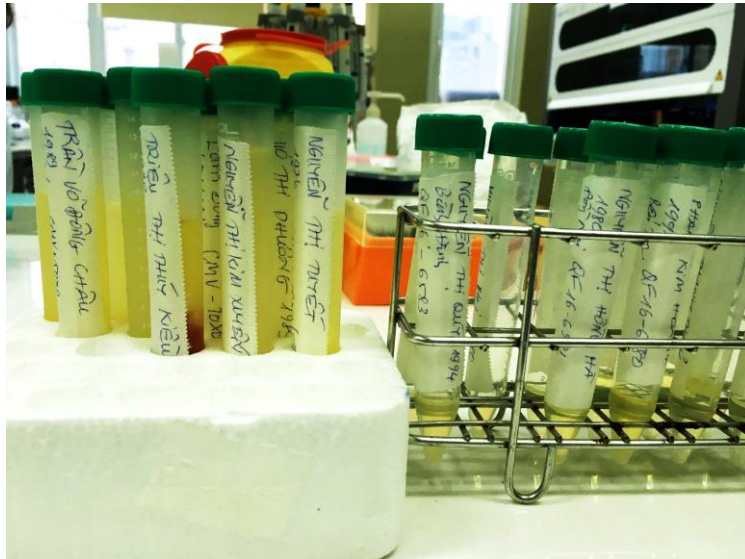


## Chọc hút dịch ối

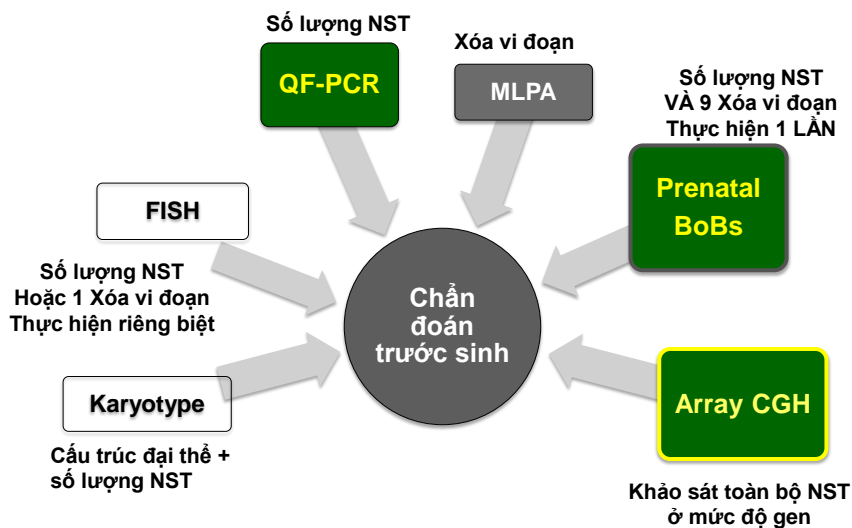


© RCOG  
 Thai 16 – 20 tuần, Dễ thực hiện  
 Nguy cơ sảy thai do thủ thuật: thấp < 0,5%  
 Nhược điểm: thai lớn

## Mẫu dịch ối



## Các kỹ thuật xét nghiệm NST trước sinh



## Xét nghiệm Karyotype (nhiễm sắc thể đồ) Di truyền tế bào cổ điển



Tủ cấy CO<sub>2</sub>, 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, vô trùng

### 1. NUÔI CÂY TẾ BÀO

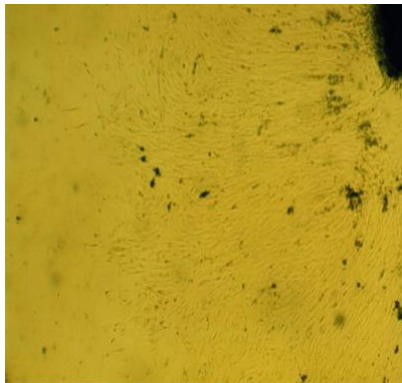
Cấy ối 14 ngày  
Theo dõi tế bào phát triển  
Thay môi trường nuôi cấy  
*Thất bại: nấm, không mọc*



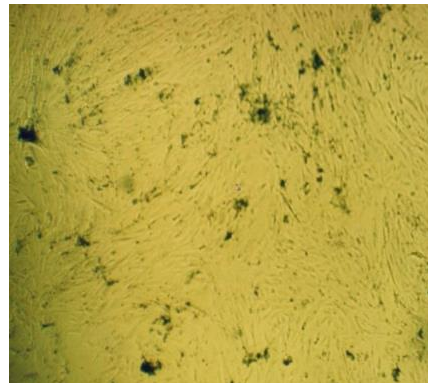
Bình & môi trường cấy TB

## Nuôi cấy tế bào ối

ngày 5 - cấy lan



ngày 10 - hợp nhất



## Nuôi cấy, XN Karyotype (NST đờ)



Phòng chuẩn bị tiêu bản  
kiểm soát nhiệt độ, ẩm độ, thông thoáng

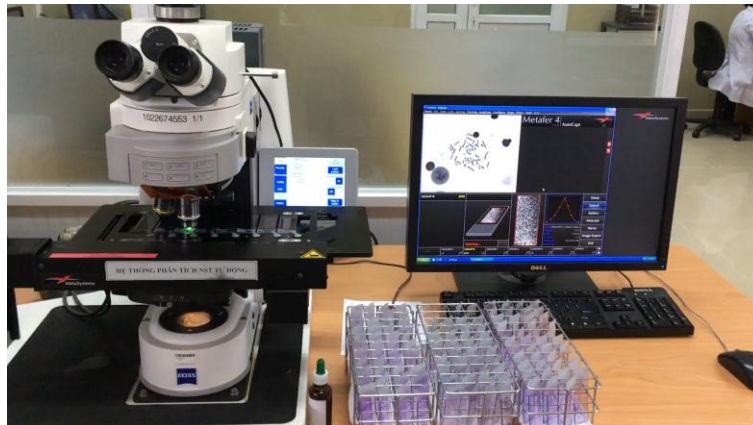
### 2. THU HOẠCH, LÀM TIÊU BẢN

Thu hoạch, Giữ tế bào ở kỳ giữa thích hợp (NST co lại vừa phải)

Nhỏ tiêu bản, sao cho NST duỗi và rời nhau ra

Nhuộm band G với Trypsin

## Nuôi cấy, XN Karyotype (NST đờ)

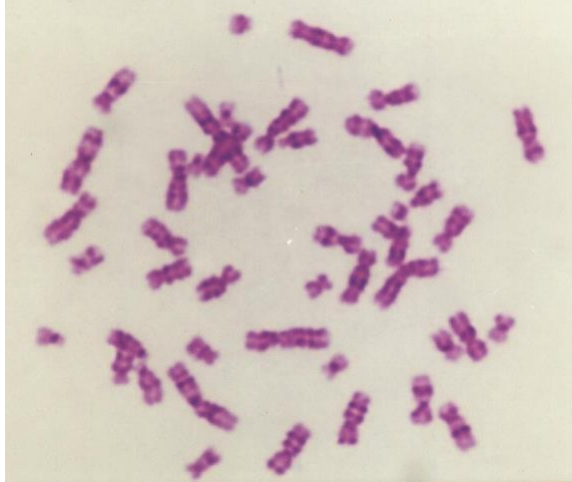


### 3. Lập bộ nhiễm sắc thể

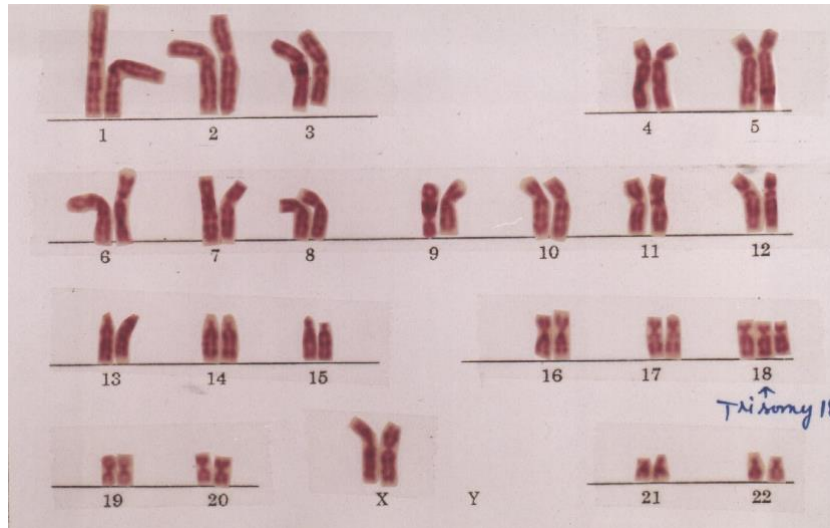
Chụp hình cụm kỳ giữa trên kính hiển vi (~ 50 mitose)

Phân tích trên máy tính, xếp bộ → In và trả kết quả

Chụp hình bằng phim, bộ nhiễm sắc thể ở kỳ giữa



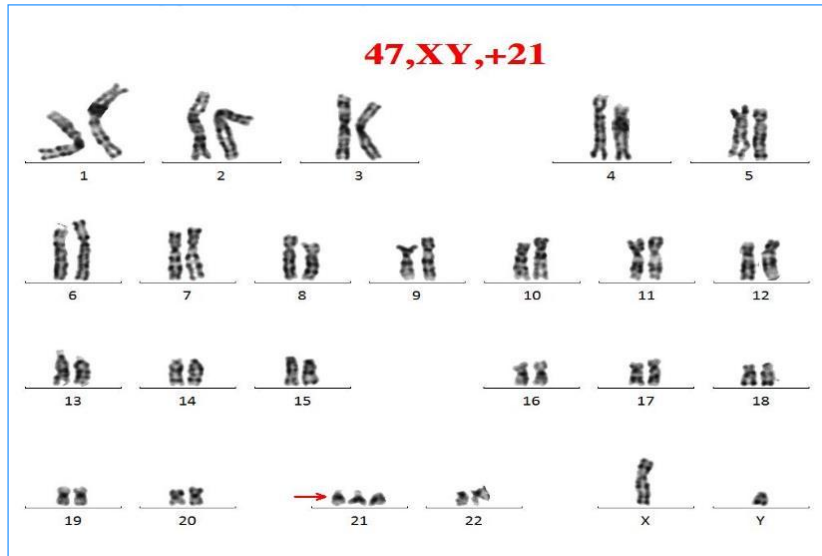
Bộ nhiễm sắc thể ở kỳ giữa xếp bằng tay



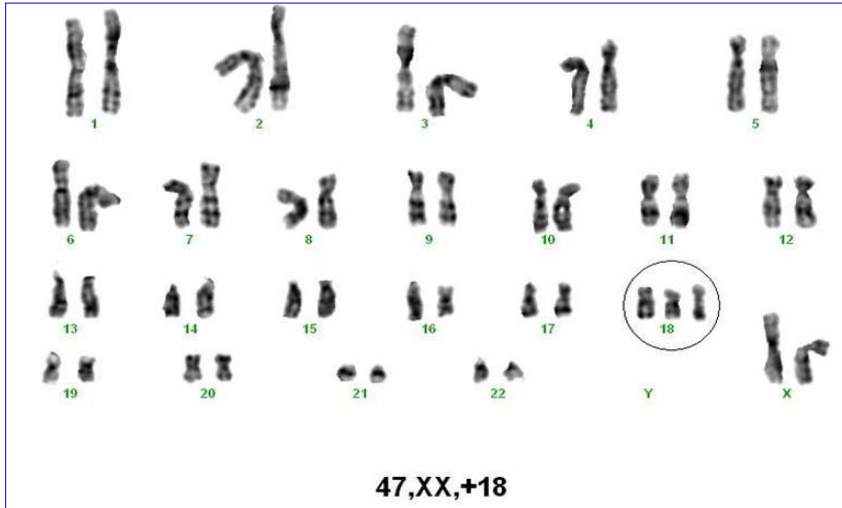
## Bộ nhiễm sắc thể ở kỳ giữa



## Trisomy 21, kiểu hình Hội chứng Down



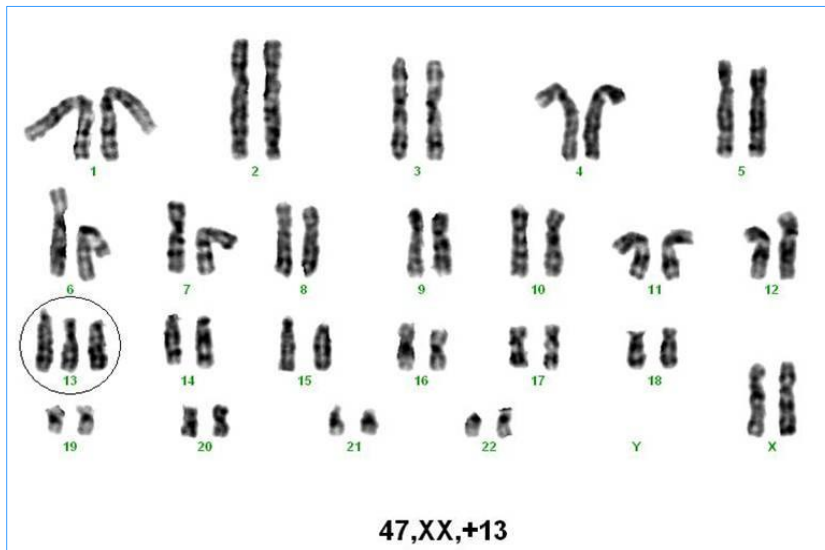
## Trisomy 18 – Hội chứng Edwards



## Trisomy 18 – Hội chứng Edwards



## Trisomy 13, Hội chứng Patau

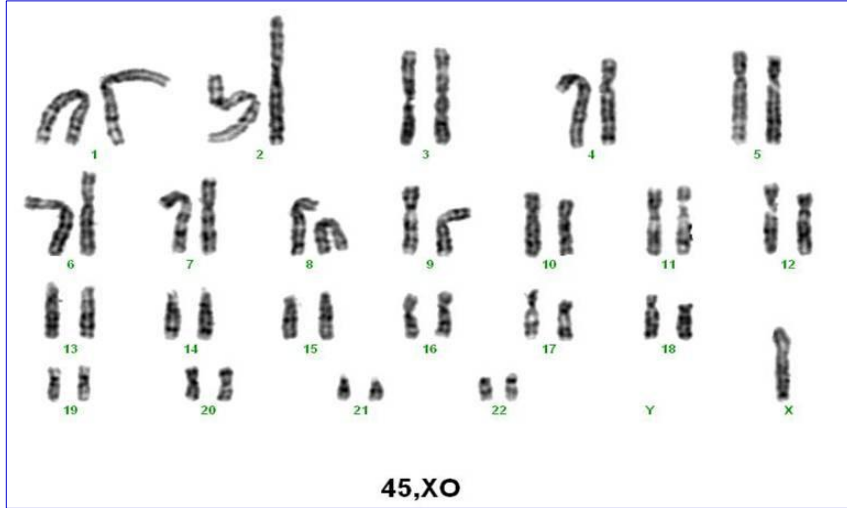


## Hội chứng Patau – Trisomy 13

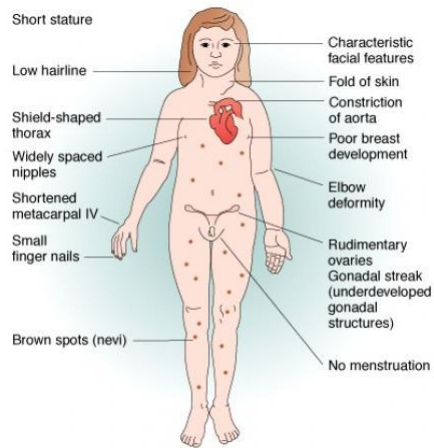




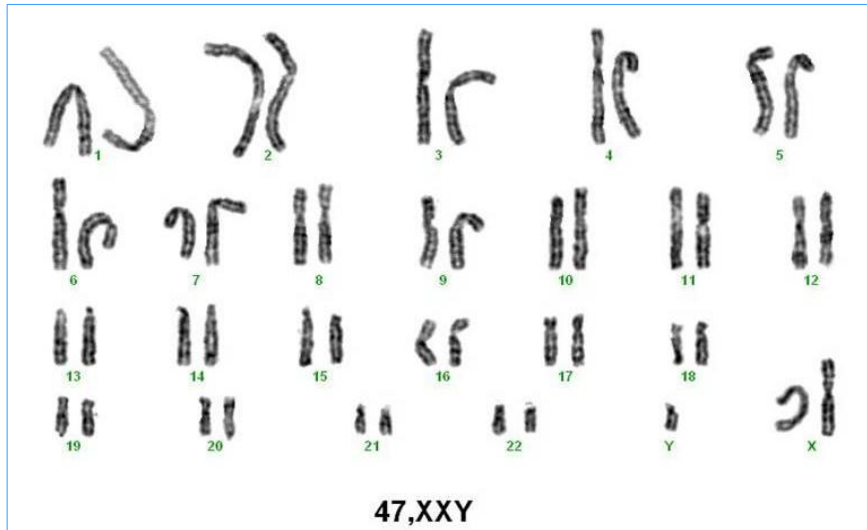
## Monosomy X, Hội chứng Turner



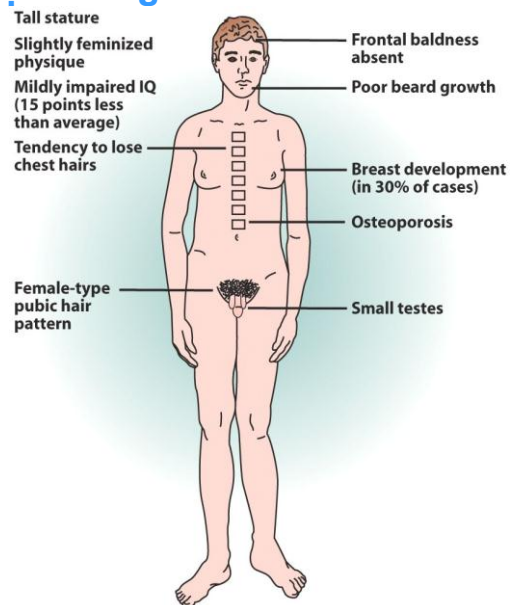
## Monosomy X, Hội chứng Turner



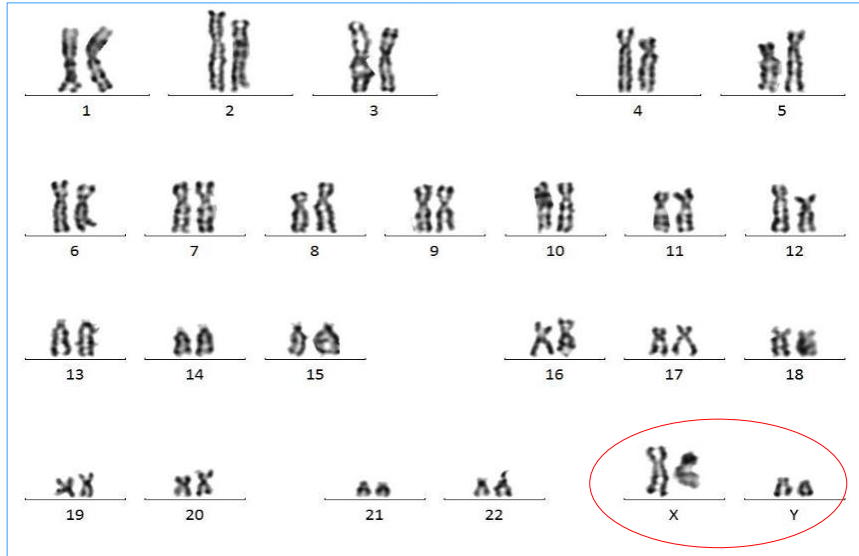
## 47,XXY, Hội chứng Klinefelter



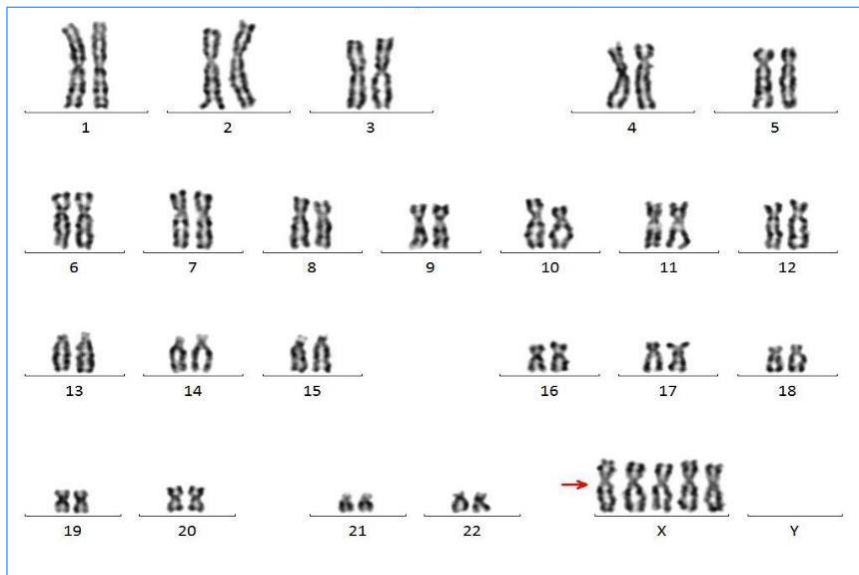
## 47,XXY, Hội chứng Klinefelter



### 48,XXYY (thừa 2 nhiễm sắc thể giới tính)

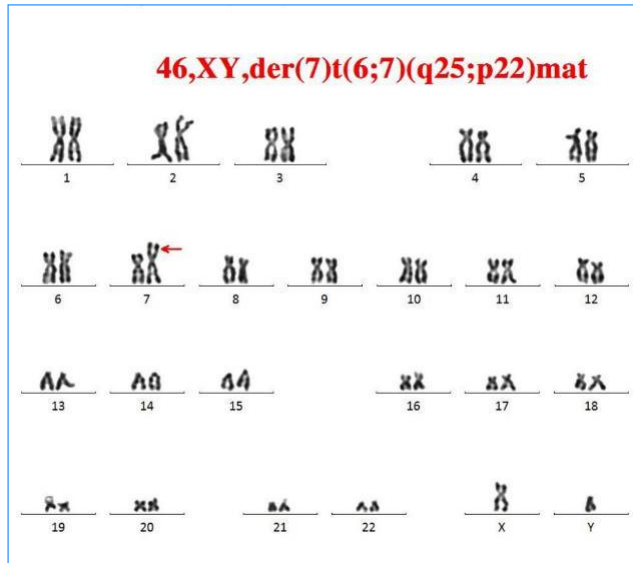


### 49,XXXXX (thừa 3 nhiễm sắc thể X)



## Karyotype dịch ới

Không rõ cấu trúc NST số 6



## Xét nghiệm Karyotype

### ƯU ĐIỂM

- Tiêu chuẩn vàng (!)
- Phát hiện bất thường số lượng, khảm, cấu trúc NST lớn (>4Mb)
- Loại bỏ tế bào ngoại nhiễm

### NHƯỢC ĐIỂM

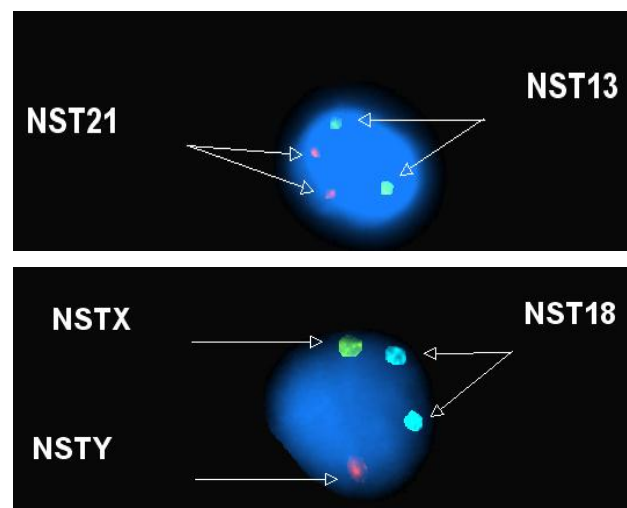
- Rất cực
- Không phát hiện được bất thường < 4Mb
- Không kết luận được vì hình ảnh không rõ
- Nguy cơ cấy tế bào thất bại

## Kỹ thuật FISH – Di truyền tế bào phân tử

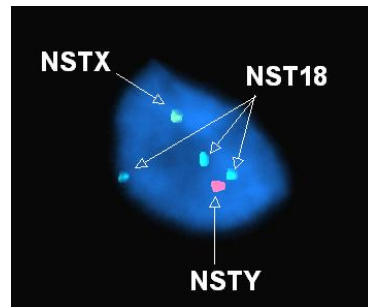
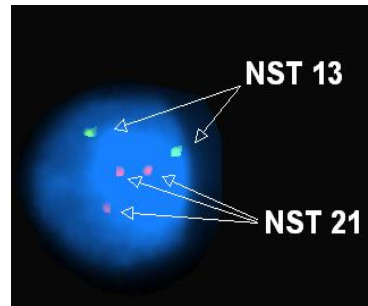
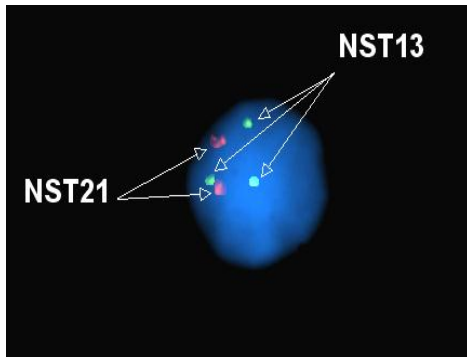
- Khảo sát nhanh số lượng NST hoặc 1 đoạn NST
- Năng suất kém, không loại trừ được ngoại nhiễm máu mẹ



## Phân tích và ra kết quả

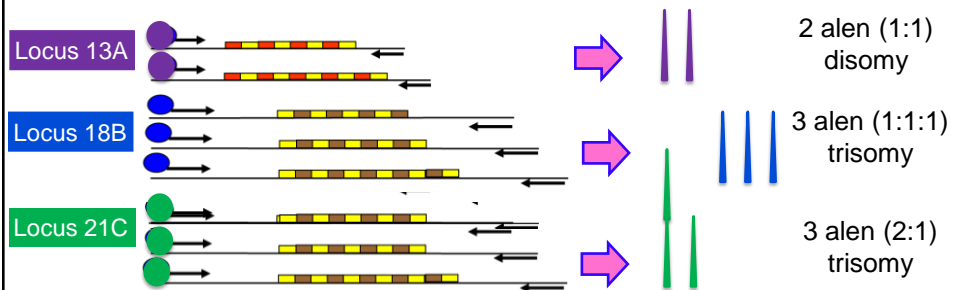


## Phân tích và ra kết quả



## Kỹ thuật QF-PCR

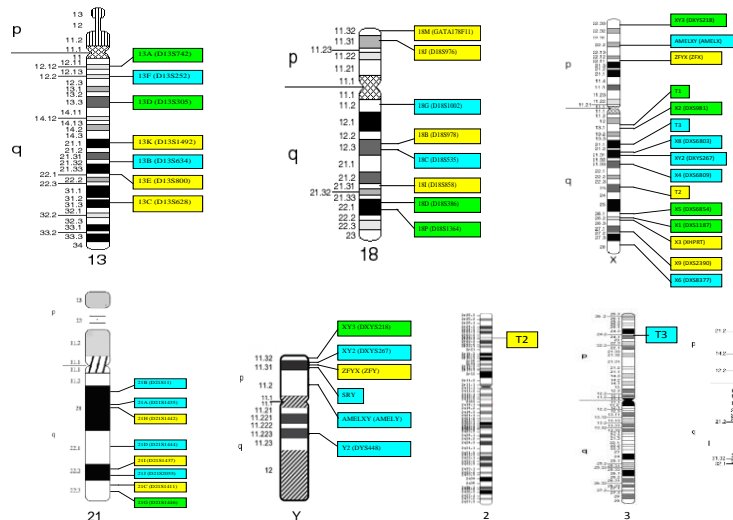
### Khuếch đại các locus STR (đặc hiệu cho NST)



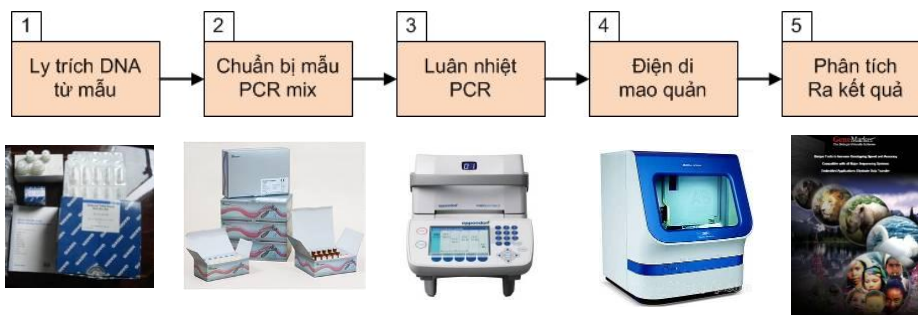
Khuếch đại các locus kích thước khác nhau

Tín hiệu NST trên biểu đồ điện di  
Xác định số lượng NST

## Kỹ thuật QF-PCR

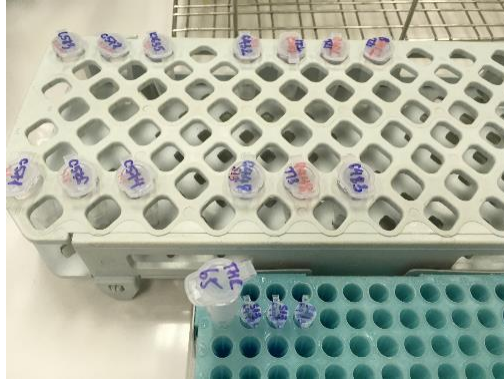


## Các bước thực hiện kỹ thuật QF-PCR



- ✦ Dịch ối 2mL, tách DNA bằng cột lọc (Qiagen)
- ✦ Multiplex PCR: 2 PCR mix = 28 marker → PCR thứ 3 nếu không đủ thông tin để kết luận (Devyser Complete và Resolution)
- ✦ Phân tách đoạn DNA bằng điện di mao quản: ABI 3500
- ✦ Phân tích kết quả bằng GeneMarker (SoftGenetics)
- ✦ Đối chiếu kết quả với karyotype

## QF-PCR : tách DNA từ tế bào dịch ối



## QF-PCR: thực hiện PCR

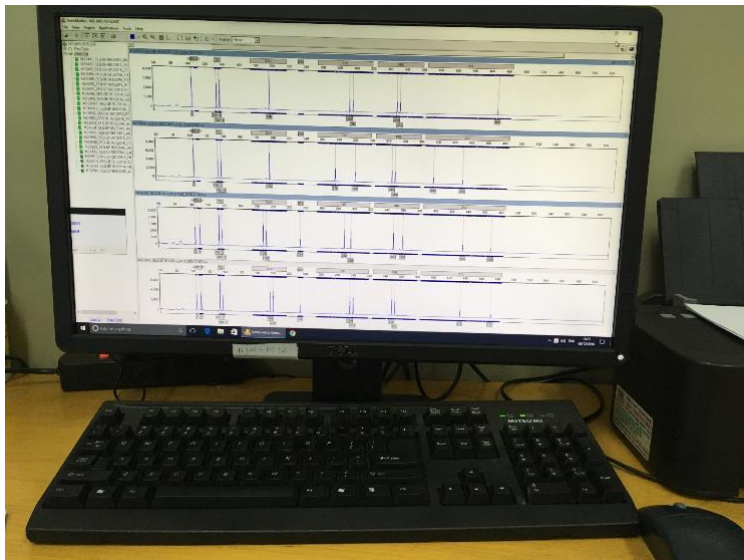




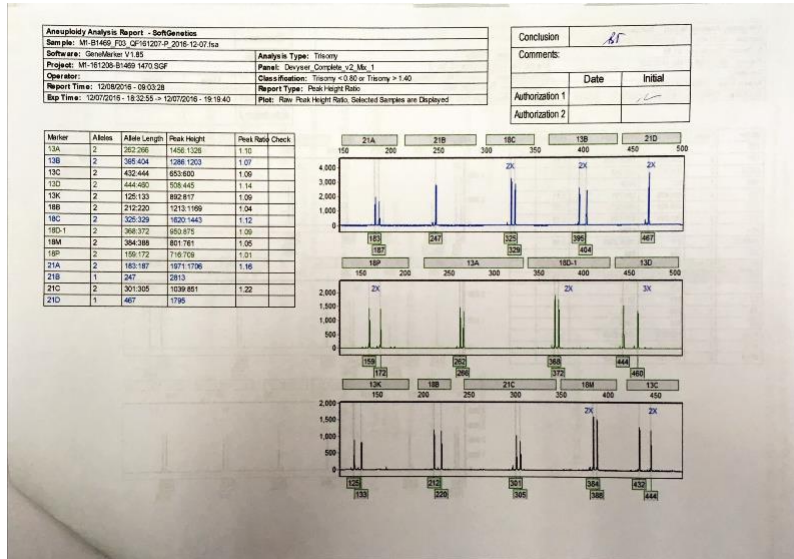
## QF-PCR: điện di mao quản (giải trình tự)



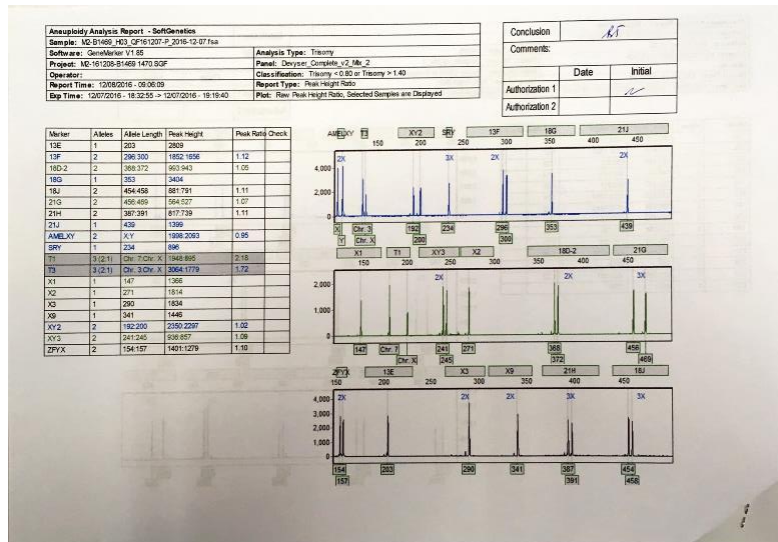
## QF-PCR: Phân tích kết quả



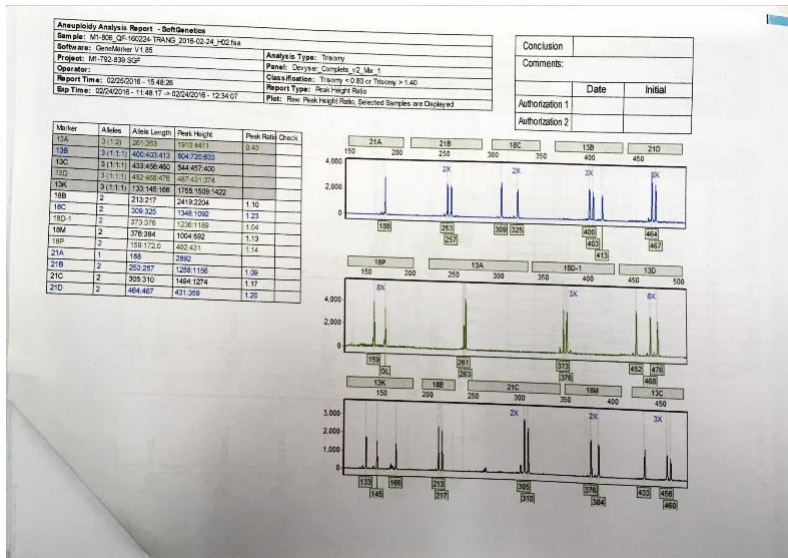
## Một số kết quả QF-PCR, disomy



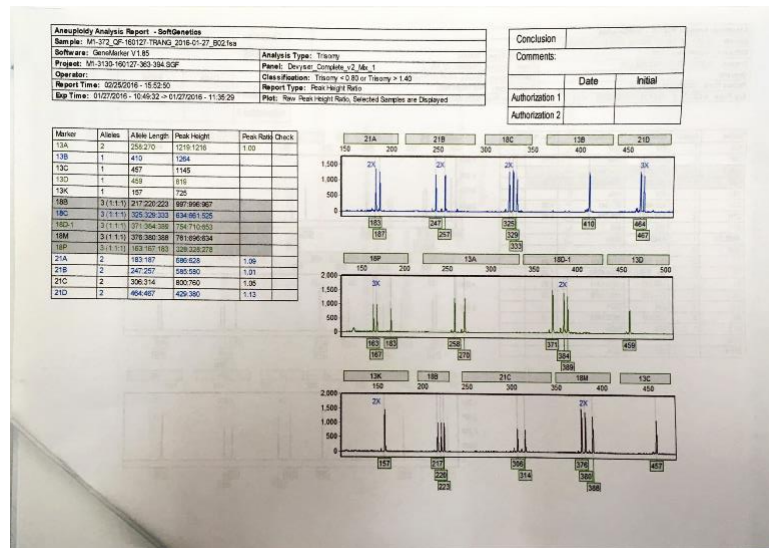
## Một số kết quả QF-PCR, disomy



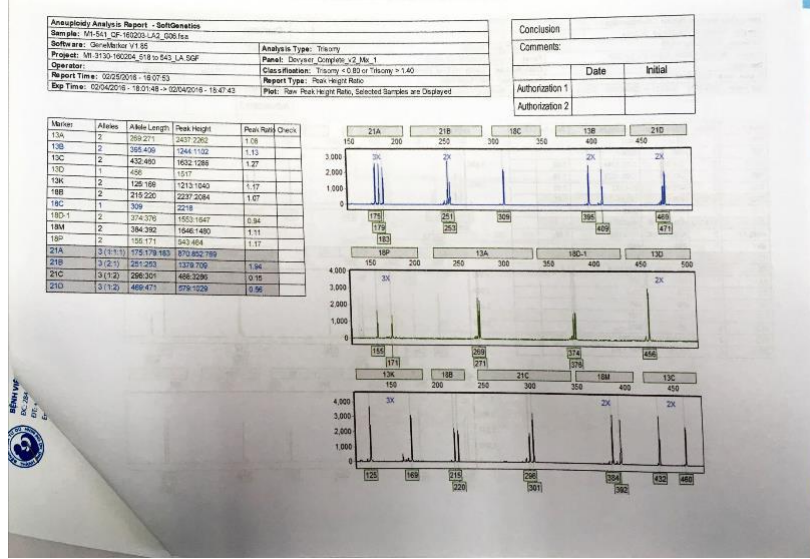
## Một số kết quả QF-PCR, trisomy 13



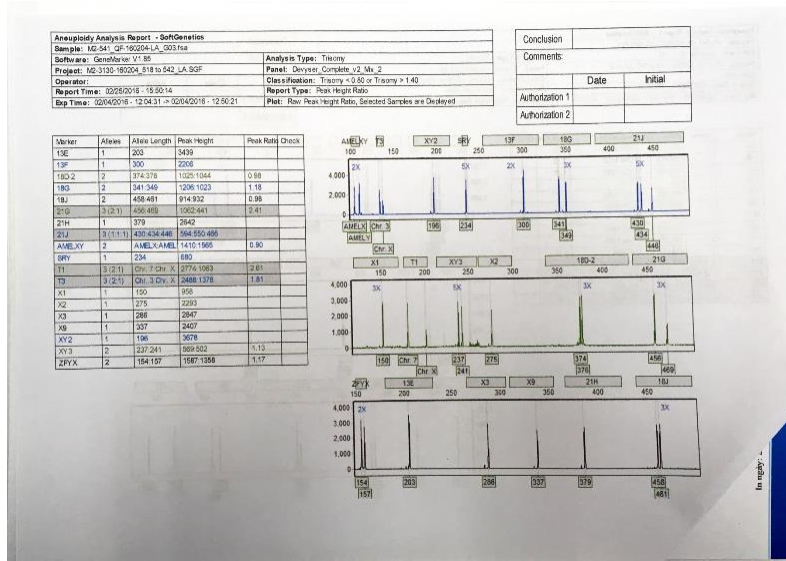
## Một số kết quả QF-PCR, trisomy 18



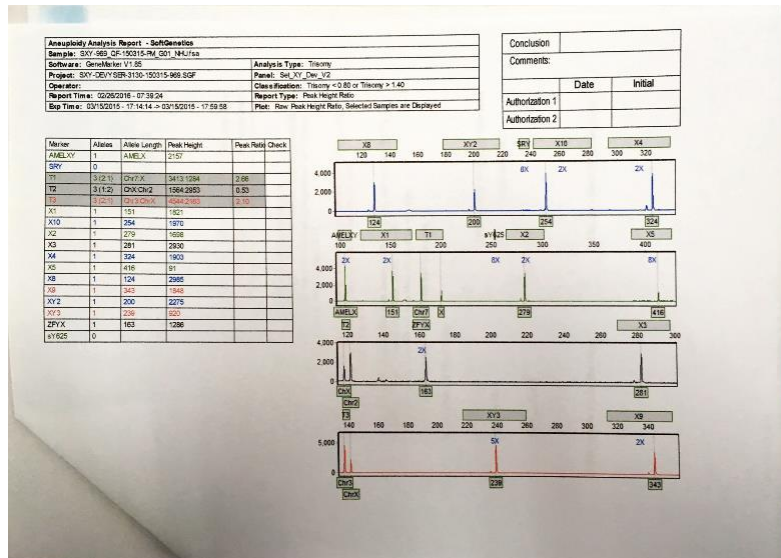
## Một số kết quả QF-PCR, trisomy 21



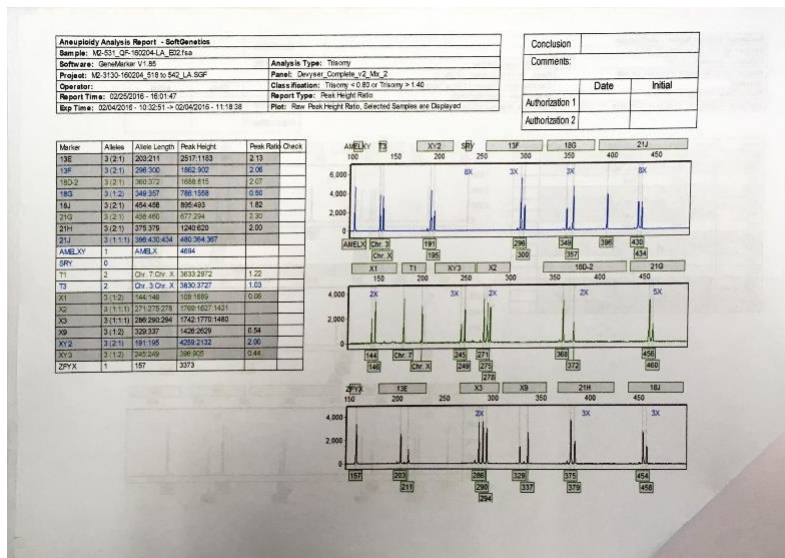
## Một số kết quả QF-PCR, trisomy 21



## Một số kết quả QF-PCR, monosomy X



## Một số kết quả QF-PCR, ?



## Ứng dụng QF-PCR

- **Ưu điểm**
  - Phát hiện được ngoại nhiễm máu mẹ
  - Nhanh, chính xác, năng suất cao
    - Độ đặc hiệu đạt 100%, không dương tính giả
    - Tiên đoán dương 100%; Tiên đoán âm 99,8%
    - Tỷ lệ phát hiện lệch bội (13, 18, 21, X, Y) 99,5%
  - Phát hiện được ngoại nhiễm máu mẹ
- **Nhược điểm**
  - Không xác định được bất thường cấu trúc
    - xóa đoạn, thêm đoạn
    - đảo đoạn
    - trao đổi đoạn đoạn
  - Không xác định được khảm

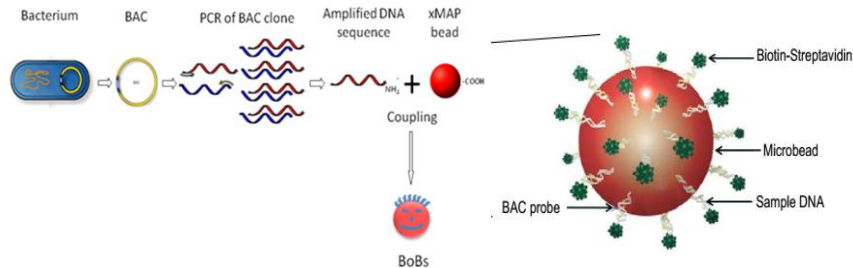
## Xét nghiệm Prenatal BoBs

Phát hiện 5 lệch bội và  
9 microdeletion có tần suất cao nhất (1/1.350 – 1/1.800)



- Trisomy 21
- Trisomy 18
- Trisomy 13
- Aneuploidy X
- Aneuploidy Y
- DiGeorge (del 22q11.2; del 10p14)
- Williams-Beuren (del 7q11.2)
- Prader-Willi (del 15q11-q12)
- Angelman (del 15q11-q12)
- Smith-Magenis (del 17p11.2)
- Wolf-Hirschhorn (del 4p16.3)
- Cri du Chat (5p15.3-p15.2)
- Langer-Giedion (8q23-q24)
- Miller-Dieker (17p13.3)

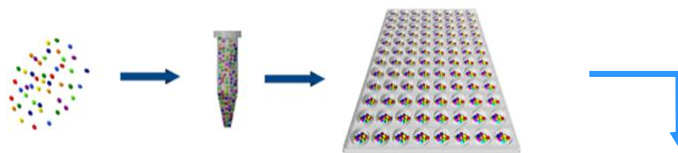
## Nguyên lý kỹ thuật BOBs (BAC-on-Beads)



- BAC (probe NST nhân tạo) đặc hiệu được gắn lên Bead (hạt nano)
- NST 13, 18, 21, X, Y : mỗi loại có loại Bead đặc hiệu
- 9 hội chứng xóa vi đoạn : mỗi loại có 4 - 8 loại Bead đặc hiệu
- Tổng cộng 85 loại Bead được mã hóa bằng phổ màu khác nhau, mỗi loại Bead có > 1 triệu cái

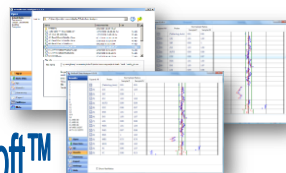
## Nguyên lý kỹ thuật BOBs (BAC-on-Beads)

DNA Nghiệm phẩm và Mẫu tham chiếu nam, **Mẫu tham chiếu nữ** được **đánh dấu huỳnh quang** và lai gắn với các probe trên các Bead



Phân tích tín hiệu bằng BoBsoft

Sản phẩm lai được đưa vào Luminex 200 để đọc tín hiệu (96 mẫu trong 1 lần XN)



**BoBsoft™**  
Analysis software

## Prenatal BOBs: XY bình thường

Expand All	Prope	Normalized Ratios		Threshold: 0,93-1,07		Threshold Y: 0,90-1,10		
		Sample/F	Sample/M	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0
+ (5)	13C	0,96	0,98					
+ (5)	18C	1,01	1,03					
+ (5)	21C	0,99	1,01					
+ (6)	AUTO	1,00	1,00					
+ (8)	CDC	0,98	0,99					
+ (5)	DGS	0,98	1,03					
+ (4)	DIG	0,97	0,98					
+ (7)	LGS	1,01	1,02					
+ (7)	MDS	0,99	1,02					
+ (7)	PWS	0,99	1,01					
+ (4)	SMS	0,98	0,99					
+ (5)	WBS	1,01	1,06					
+ (5)	WHS	0,98	1,01					
+ (5)	XC	0,65	1,01					
+ (5)	YC	5,96	0,99					

## Prenatal BOBs: Trisomy 21, XX

Expand All	Prope	Normalized Ratios		Threshold: 0,90-1,10		Threshold Y: 0,85-1,15		
		Sample/F	Sample/M	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0
+ (5)	13C	0,97	0,98					
+ (5)	18C	0,98	1,00					
+ (5)	21C	1,31	1,37					
+ (6)	AUTO	1,01	1,01					
+ (8)	CDC	0,98	0,99					
+ (5)	DGS	0,99	1,02					
+ (4)	DIG	0,98	1,01					
+ (7)	LGS	0,99	1,00					
+ (7)	MDS	0,99	1,05					
+ (7)	PWS	0,97	0,99					
+ (4)	SMS	1,02	1,05					
+ (5)	WBS	1,06	1,09					
+ (5)	WHS	0,99	1,02					
+ (5)	XC	1,03	1,63					
+ (5)	YC	0,93	0,14					



## Prenatal BOBs: Del 22q11.2, XX

Expand All	Prope	Normalized Ratios		Threshold: 0,91-1,09 Threshold Y: 0,87-1,13				
		Sample/F	Sample/M	0.0	0.5	1.0	1.5	2.0
⊕ (5)	13C	0,98	0,99					
⊕ (5)	18C	0,97	0,98					
⊕ (5)	21C	0,99	1,00					
⊕ (6)	AUTO	0,98	0,98					
⊕ (8)	CDC	1,03	1,02					
⊕ (5)	DGS	0,74	0,74					
⊕ (4)	DIG	0,99	1,01					
⊕ (7)	LGS	0,95	0,96					
⊕ (7)	MDS	1,02	1,02					
⊕ (7)	PWS	1,01	1,00					
⊕ (4)	SMS	0,98	0,98					
⊕ (5)	WBS	1,03	1,05					
⊕ (5)	WHS	1,03	1,03					
⊕ (5)	XC	0,98	1,49					
⊕ (5)	YC	1,07	0,21					

## Hội chứng Prader Willi



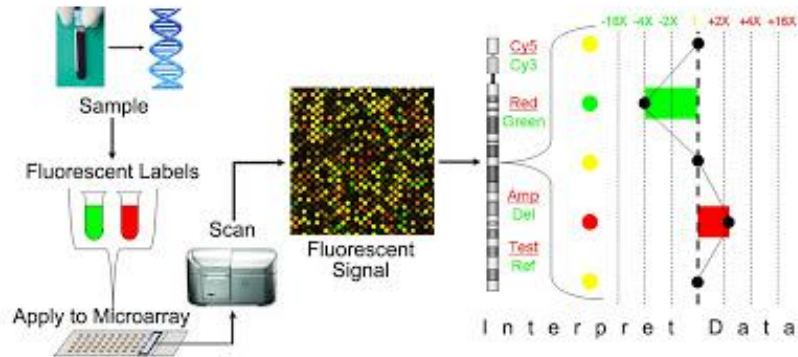
## Hội chứng Angelman



## Array-CGH

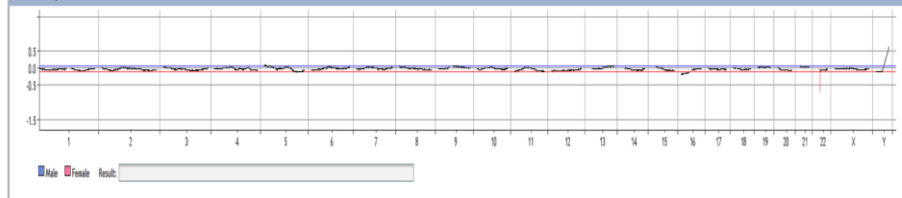


## Array-CGH: khảo sát 24 nhiễm sắc thể



## Array-CGH: khảo sát 24 nhiễm sắc thể, Del 22q11.2, XY (Hội chứng DiGeorge)

Genome View (Amp/Del) / '256755910866\_2\_3' analyzed with 'Single Cell Small Aberration Analysis Method'



Amp/Gain/Loss/Del Intervals Table (256755910866\_2\_3)

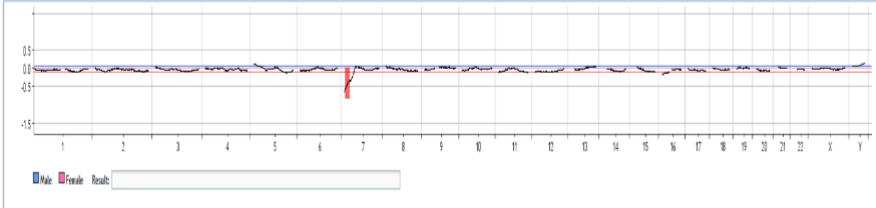
Chr	Start-Stop(bp)	Cytoband	Size(kb)	#Probes	Amp/Gain/ Loss/Del	P-value	Annotations
chr22	19010449-21798155	q11.21	2,787.707	77	-0.732	NA	DGCR5, DGCR10, DGCR2, DGCR11, DGCR14...

Amp=Amplification Del=Deletion

Total Amp/Gain/Loss/Del Intervals: 1

## Array-CGH: khảo sát 24 nhiễm sắc thể, Del 7p22.1-15.2, XY (hội chứng Cri-du-Chat)

Genome View (Amp/Del) / '256755910866\_2\_4' analyzed with 'Single Cell Small Aberration Analysis Method'



Amp/Gain/Loss/Del Intervals Table (256755910866\_2\_4)

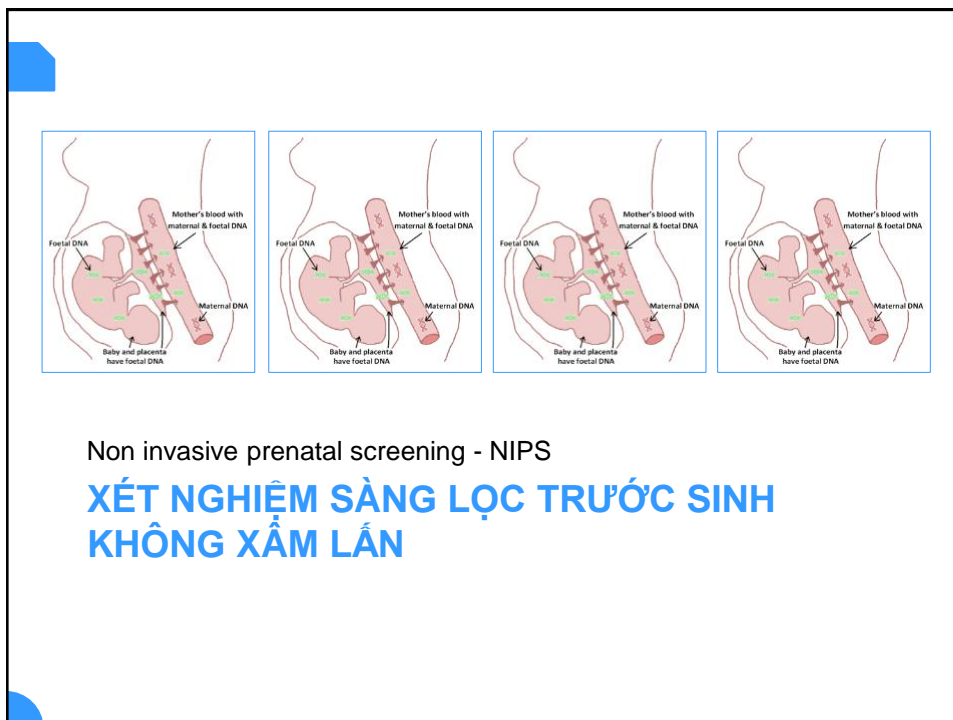
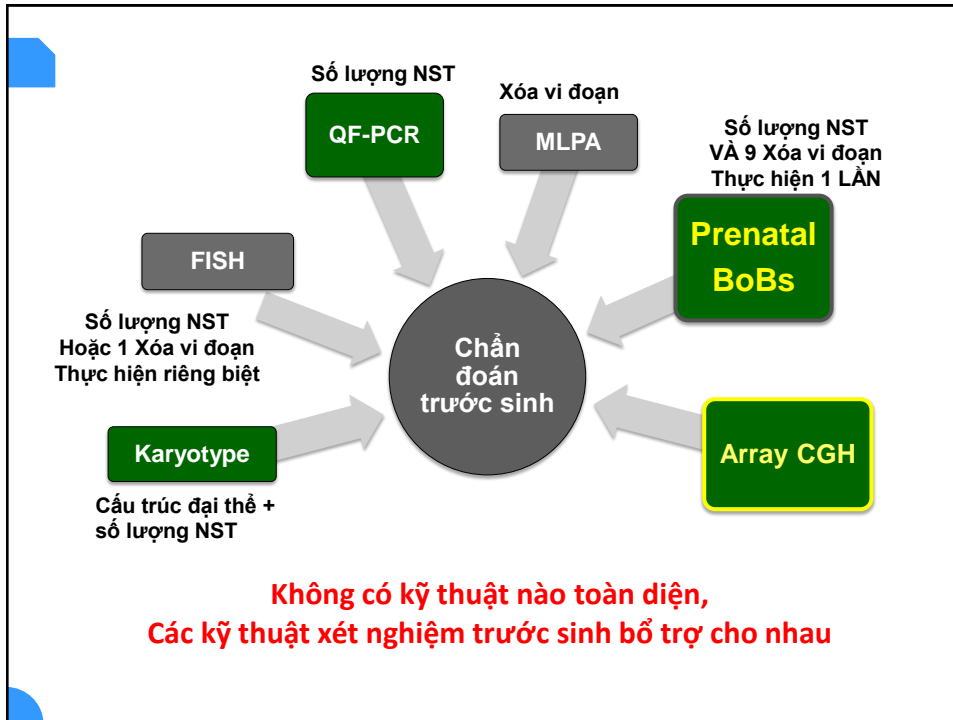
Chr	Start-Stop(bp)	Cytoband	Size(kb)	#Probes	Amp/Gain/ Loss/Del	P-value	Annotations
chr7	5770846-26221783	p22.1 - p15.2	20,450.938	362	-0.843	NA	RNF216, ZNF815P, OCM, CCZ1, RSPH10B2...

Amp=Amplification Del=Deletion

Total Amp/Gain/Loss/Del Intervals: 1

## Prenatal BOBs và Array CGH

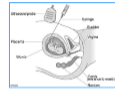
- **Ưu điểm**
  - Nhanh, năng suất cao
  - Khảo sát số lượng NST
  - Khảo sát cấu trúc: lặp đoạn, xóa đoạn
  - Chi phí hợp lý
- **Nhược điểm**
  - Chống chỉ định khi có tam bội
  - Không phát hiện được khảm
  - Không phát hiện được trao đổi đoạn cân bằng
  - Không phát hiện được ngoại nhiễm máu mẹ



## Các thủ thuật chẩn đoán trước sinh



Chọc ối



Sinh thiết gai nhau



Chọc hút máu dây rốn

Thủ thuật xâm lấn gây sảy thai

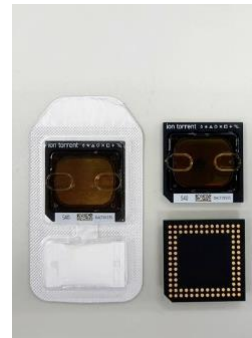
### Phương pháp tầm soát mới

- Tỷ lệ phát hiện cao hơn
- Tỷ lệ dương tính sai thấp hơn
  - Chỉ định chọc ối, STGN ít hơn

Sàng lọc trước sinh không xâm lấn (NIPS)



## NIPS tại Bệnh viện Từ Dũ

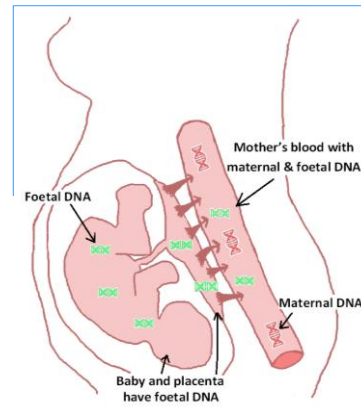
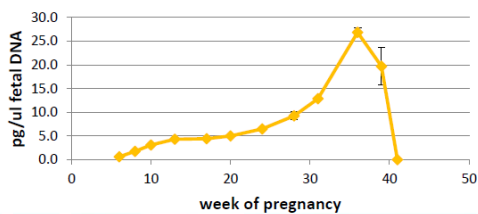


## Cell-Free Fetal DNA (cff-DNA)

### DNA tự do của thai

- ✦ Nguồn gốc từ nhau thai
- ✦ Xuất hiện từ 7 tuần, tăng dần
- ✦ Tỷ lệ 3% - 19% cf-DNA
- ✦ Kích thước : ~170bp

### Detection of Fetal DNA in Maternal Plasma



Edlow AG, Bianchi DW. *Biochem Biophys Acta.* 2012;1822:1970–80.

## Quy trình NIPT tại Bệnh viện Từ Dũ

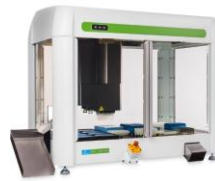
### 1. Lấy máu



### 2. Tách chiết cfDNA



### 3. Chuẩn bị thư viện DNA



Tự động

Thủ công

### 4. Giải trình tự



### 5. Phân tích kết quả



## Non-invasive Prenatal Screening (NIPS)

### Sàng lọc trước sinh không xâm lấn

- **Bất thường số lượng nhiễm sắc thể**
  - Lệch bội 21, 18, 13, X, Y
  - Có thể khảo sát 24 loại nhiễm sắc thể (1-22, X, Y)
- **Xóa vi đoạn nhiễm sắc thể**
  - 22q11 deletion (DiGeorge)
  - 15q11 deletion (Angelman/ Prader-Willi)
  - 5p- (Cri-du-chat)
  - Các loại khác

## Giá trị của NIFTY (Non-invasive Fetal Trisomy - BGI)

Nghiên cứu trên 146.958 thai kỳ

Trisomy	Dương tính	Dương tính giả	Độ nhạy	Độ đặc hiệu	Giá trị tiên đoán dương	Giá trị tiên đoán âm
<b>T21</b>	<b>720</b>	<b>61</b>	<b>99,17%</b>	<b>99,95%</b>	<b>92,19%</b>	<b>99,99%</b>
T18	167	51	98,24%	99,95%	76,61%	100%
T13	22	45	100%	99,96%	32,84%	100%
<b>Tổng số</b>	<b>909</b>	<b>157</b>	<b>99,02%</b>	<b>99,86%</b>	<b>85,27%</b>	<b>99,99%</b>

TLTK: Zhang H, et al. (2015) **Non-invasive prenatal testing for trisomies 21, 18 and 13: clinical experience from 146,958 pregnancies**. Ultrasound Obstetrics and Gynecology; 45(5):530-8.



## Cẩn trọng, chống chỉ định



### CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Thai phụ (hoặc chồng) khả năng nhiễm sắc thể
- Song thai tiêu biến (Vanishing-twin)
- 3 thai
- Bệnh ác tính
- Đang điều trị truyền máu



### CẨN TRỌNG

- Điều trị ghép: tủy, gan, thận, tế bào gốc
- Điều trị chống đông Heparin
- Béo phì

## Cẩn trọng, chống chỉ định

**Maternal liver transplant: Another cause of discordant fetal sex determination using cell-free DNA.** Neofytou M, et al. (2018) Pren Diag. 38:148–150

“Noninvasive prenatal testing (NIPT) can very accurately determine fetal sex during pregnancy. We present an exceptional case where NIPT contradicts the ultrasound-based sex determination. **The pregnant woman was recipient of a liver transplant from a male donor.** Graft-derived cell-free DNA released into the maternal circulation clouded the NIPT-based sex determination. Hence, **NIPT is not advisable when the pregnant mother underwent an organ transplant.**”

## Các hạn chế (theo ACOG, SFMF, ISUOG)

- Không phát hiện khảm, gây âm tính giả
- Không phải xét nghiệm chẩn đoán (dù PPV 92,19%)
- Chi phí còn cao
- Lựa chọn giới tính



*Thank You* **Cám ơn**

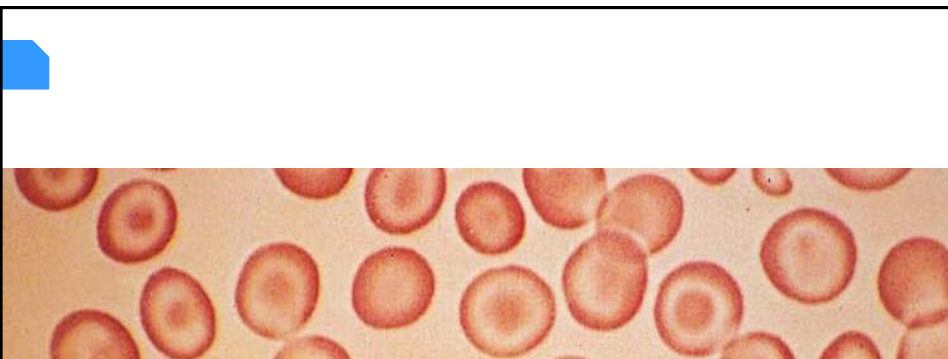


### NGUYỄN KHẮC HÂN HOAN

✉ drhoan@gmail.com    📞 08 8888 4400  
 📍 284 Công Quỳnh, Quận 1, Thành phố Hồ Chí Minh  
 📺 📺 Nguyễn Khắc Hân Hoan

XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN

## **BẤT THƯỜNG GEN**



**XÉT NGHIỆM TRƯỚC SINH THALASSEMIA**

## Thalassemia

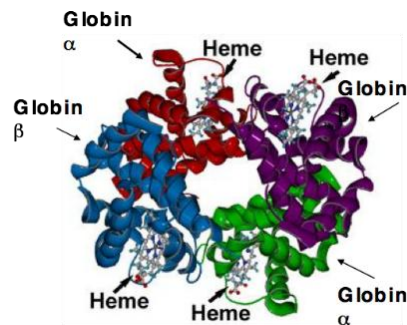
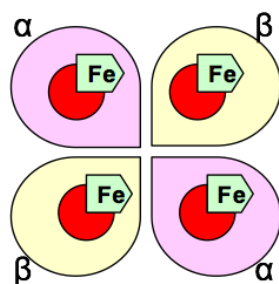
- Bệnh thiếu máu, tan máu hàng đầu ở trẻ em Việt Nam
- WHO 1983: Vấn đề SK nghiêm trọng của Đông Nam Á
- Bệnh đơn gen, di truyền lặn, quy luật Mendel
- Đột biến gen globin -> **giảm sản xuất globin và Hb**



### Phòng ngừa: TẦM SOÁT – CHẨN ĐOÁN TRƯỚC SINH

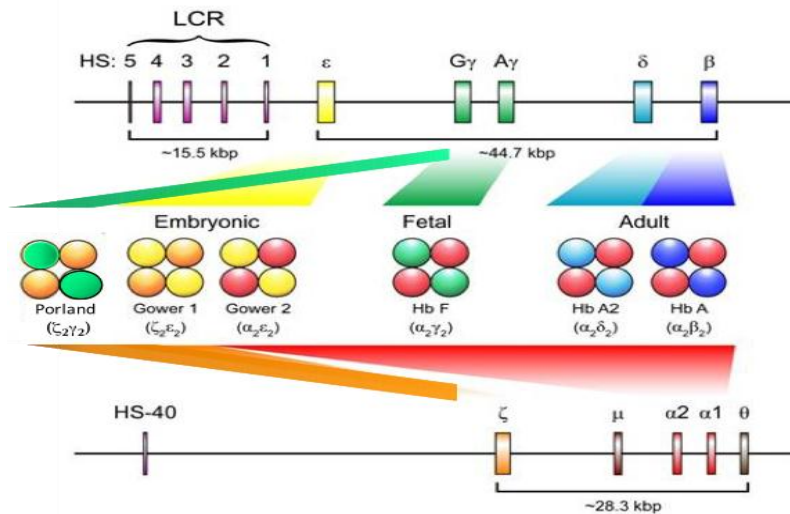
- >> Đột biến gen globin -> sản xuất globin variant (bệnh Hb)

## Phân tử HbA



- 4 Globin cuộn lại tạo túi heme
- 4 nguyên tử sắt  $Fe^{2+}$
- HbA ở người lớn:  $\langle 2\alpha 2\beta \rangle$

## Gen globin, Các Hb theo giai đoạn phát triển



## Các gen globin tắt, mở theo giai đoạn phát triển

## Phân loại thalassemia

### Phổ biến nhất

- $\alpha$ -thalassemia
- $\beta$ -thalassemia



### Rất phổ biến

- Thalassemia kết hợp Hb variant **HbE, HbCS**

### Thế hiếm

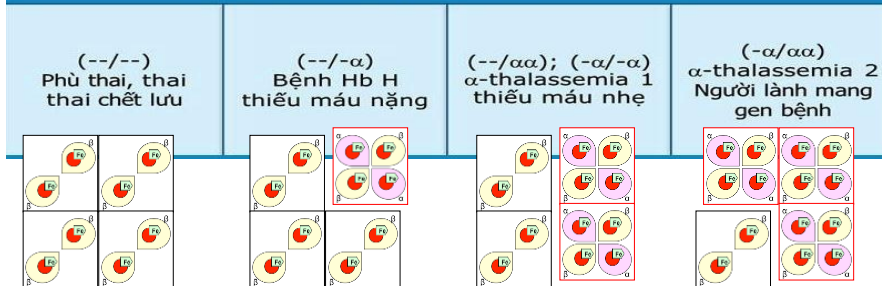
- $\gamma$ -thalassemia
- $\delta$ -thalassemia
- $\epsilon\gamma\delta\beta$ -thalassemia

### Rất hiếm

- HPFH
- $\delta\beta$ -thalassemia
- $\gamma\delta\beta$ -thalassemia

## Các thể bệnh $\alpha$ -thalassemia

Mức độ lâm sàng tỉ lệ số gen globin  $\alpha$  đột biến  
 ( $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ ) Người bình thường



Bệnh Hb Bart's



## Các thể bệnh $\beta$ -thalassemia

Người bình thường  $\beta/\beta$

Lâm sàng tỉ lệ số gen globin  $\beta$  đột biến

<p><math>\beta</math>-thal. Minor  <math>\beta^+/ \beta</math> hoặc <math>\beta^0/ \beta</math>                  Thiếu máu nhẹ</p>		<p>truyền máu suốt đời</p>
<p><math>\beta</math>-thal. Intermedia  <math>\beta^+/\beta^+</math> hoặc <math>\beta^0/\beta^+</math>                  Thiếu máu vừa</p>		
<p><math>\beta</math>-thal. Major  <math>\beta^0/\beta^0</math> hoặc <math>\beta^+/\beta^0</math>                  Thiếu máu nặng</p>		

## Di truyền lặn theo quy luật Mendel

Người mang gen bệnh:

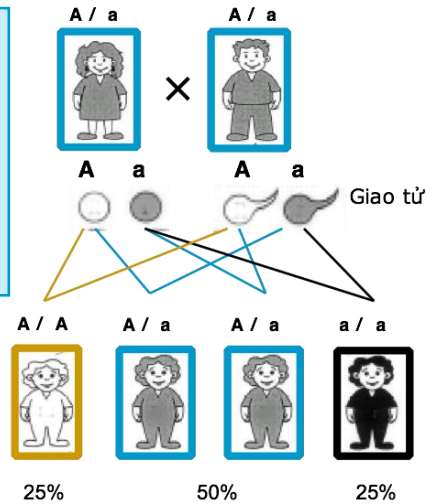
- ✦ Thiếu máu: hồng cầu nhỏ, nhược sắc, không biểu hiện LS
- ✦ MCV < 80fL, MCH < 27pg
- ✦ Có thể có con thalassemia nặng nếu lấy người mang 1 gen bệnh

*A* : bình thường – *a* : đột biến

*A/A* : người bình thường

*A/a* : người mang gen bệnh

*a/a* : biểu hiện bệnh



## Một nhà ba con cùng mắc bệnh thalassemia



Nature Reviews | Genetics

Thalassemia

“Cháu Nguyễn Triệu Huân 15 tuổi, con của ông Thọ và bà Nông, vừa trải qua **đợt truyền máu thứ 3 từ đầu năm**, tại Bệnh viện Đa khoa tỉnh Gia Lai.

Sức khỏe của cháu rất suy kiệt, da xanh nhợt, bụng ỏng, chân tay teo tóp.

Căn bệnh thalassemia đã cùng lúc tấn công cả **3 trong 4 đứa con** của ông.

Cô chị Quỳnh Như phát bệnh năm 1980, lúc mới 1 tuổi. Tiếp đến Huân và Chương, em trai 11 tuổi.

Bệnh viện tuyến tỉnh chỉ có thể **kéo dài sự sống** bằng cách **truyền máu và cắt lách** để nới rộng khoảng cách các đợt tan huyết, cũng như để tránh vỡ lách khi nó quá to”.

(Nguồn: Báo Lao Động số 161 ngày 23/6/2002 của Nguyễn Thịnh)

## Phòng ngừa Thalassemia

Rất đơn giản - Rất hiệu quả



Nature Reviews | Genetics

Thalassemia

MCH, MCV giảm

Ferritin bình thường

HbE, HbA2 >3,5%?

## Đối tượng sàng lọc



- Tất cả thai phụ
- Có tiền sử gia đình bệnh thalassemia



## Phương pháp xét nghiệm gen thalassemia

- **Gen globin alpha (HBA), globin beta (HBB)**
- **Nghiệm phẩm**
  - Trẻ em, người lớn: máu tĩnh mạch ngoại vi (3 mL)
  - Thai: dịch ối (10 mL), mô gai nhau (4 mg)
  - Phôi: tế bào phôi
- **Kỹ thuật**
  - PCR, realtime PCR
  - giải trình tự DNA
  - MLPA
  - Reverse dot blot

## Tỉ lệ bệnh thalassemia tại Bệnh viện Từ Dũ



1.416 thai phụ + chồng  
mang gen thalassemia

$\alpha$

65,3%  $\alpha$ -thalassemia

$\beta$

30,7%  $\beta$ -thalassemia

11,6%  $\beta$ -thal kèm  $\alpha$ -thal [32 / (230 + 32)]

$\alpha$

$\beta$

4,0%  $\alpha$ - và  $\beta$ -thalassemia

## Bệnh loạn dưỡng cơ Duchenne

- **Duchenne muscular dystrophy, DMD**
- Tỷ lệ cao nhất nhóm bệnh di truyền về thần kinh cơ, **1/3.500 trẻ trai**
- Nhược cơ
  - teo cơ vân
  - xuất hiện sớm, 2 – 3 tuổi
  - tiến triển nặng nhanh
  - tử vong ~ 20 tuổi vì tổn thương cơ tim và rối loạn hô hấp.
- **Bệnh BMD**
  - biểu hiện bệnh nhẹ hơn, tiến triển chậm.



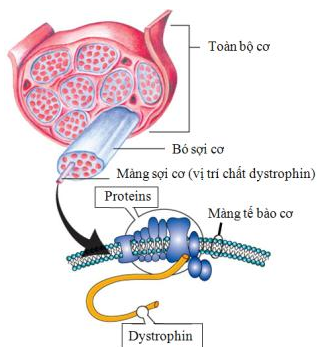
Người bình thường



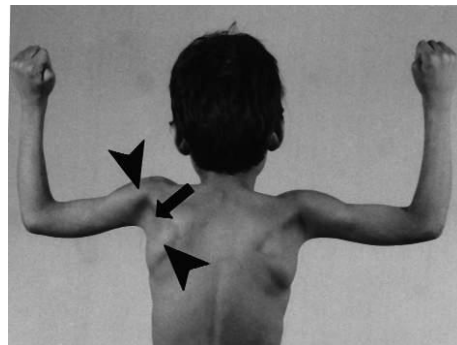
Bệnh nhân DMD

## Bệnh Duchenne DMD

Các vùng cơ bị loạn dưỡng & teo đi trong bệnh DMD

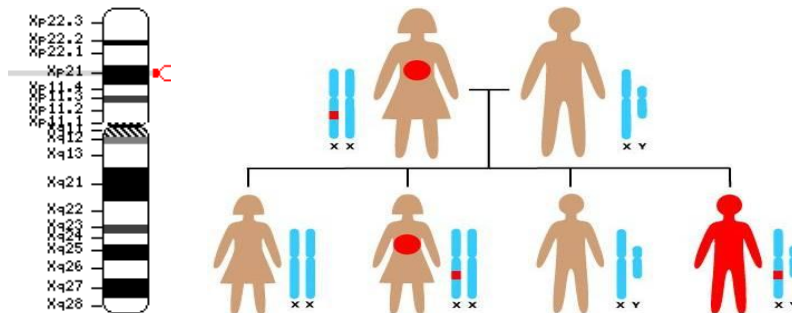


Duchenne and Becker Types



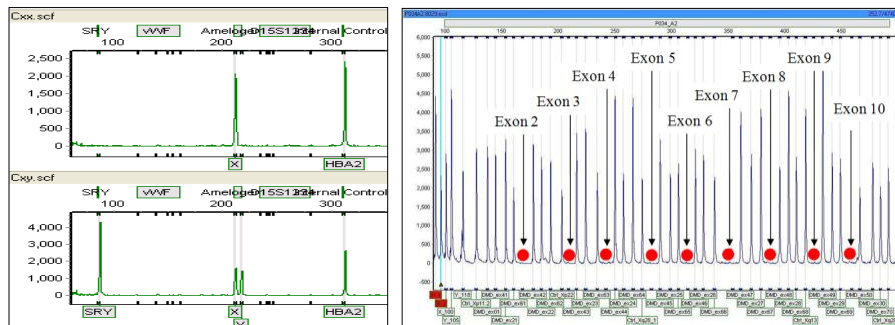
## Cơ chế di truyền bệnh DMD

- Di truyền lặn liên kết NST giới tính X
  - Đột biến gen dystrophin trên NST X, vị trí Xp21.2.
  - Mẹ mang gen truyền cho con trai
  - > 65% do đột biến mất đoạn hoặc lặp đoạn gen dystrophin
- Bệnh DMD hầu như chỉ xảy ra ở các trẻ trai



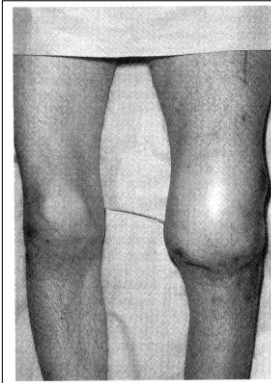
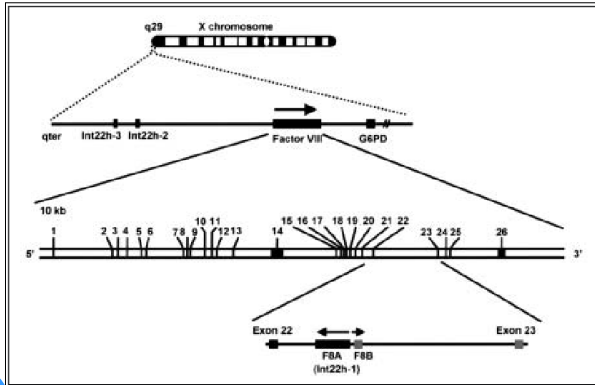
## CD trước sinh đột biến gen DMD

- Đối tượng
  - Thai phụ nghi ngờ mang gen hoặc có con bị bệnh DMD hoặc BMD
  - Trẻ bị bệnh DMD và BMD
- Kỹ thuật
  - PCR xác định giới tính nam của thai
  - MLPA khảo sát đột biến gen
  - PCR phân tích liên kết gen của thai với mẹ và anh trai bị bệnh



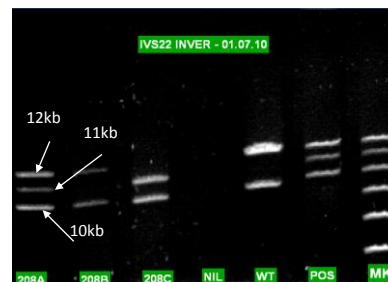
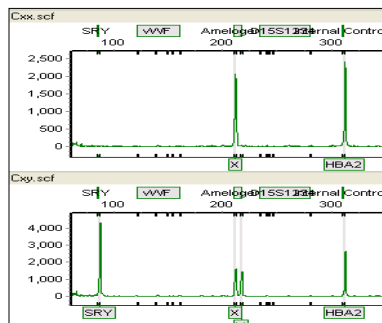
## Hemophilia A

- Giảm yếu tố VIII đông máu
  - Truyền yếu tố VIII suốt đời, gây nhiều di chứng
- Di truyền liên kết với NST giới tính X
  - Thường gặp ở nam, **Tỉ lệ 1 / 5.000 bé trai sơ sinh**
  - Đột biến gen FVIII, trên NST X, ở vị trí Xq28



## CĐ trước sinh đột biến gen FVIII

- Đối tượng
  - Thai phụ nghi ngờ mang gen hoặc có con bị bệnh hemophilia
  - Trẻ bị bệnh bệnh hemophilia
- Kỹ thuật
  - PCR xác định giới tính nam của thai
  - PCR khảo sát đột biến đảo đoạn Intron 22
  - PCR phân tích liên kết gen của thai với mẹ và anh trai bị bệnh



Kết quả khảo sát đột biến đảo đoạn intron 22 gia đình 208

1. Kỹ thuật nào sau đây có thể khảo sát được lệch bội nhiễm sắc thể
2. Bước đầu tiên của kỹ thuật QF-PCR là gì
3. Bệnh thalassemia di truyền theo quy luật gì
4. Bệnh DMD di truyền theo quy luật gì
5. Tại sao 2 vợ chồng bình thường nhưng sinh con bị Trisomy 21 (Hội chứng Down)