

GIÁ TRỊ MCH VÀ MCV TRONG TẦM SOÁT TRƯỚC SINH THALASSEMIA

BS. NGUYỄN KHẮC HÂN HOAN
Trưởng Khoa Xét nghiệm Di truyền Y học
Bệnh viện Từ Dũ

Đặt vấn đề

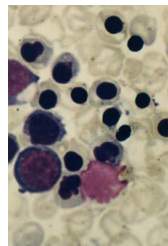
Thalassemia

- Bệnh đơn gen, di truyền lặn – Mendel
- Thiếu máu tan máu hàng đầu ở trẻ em & người lớn
- 2 thể chính: α -thalassemia và β -thalassemia
- WHO
 - Vấn đề sức khỏe nghiêm trọng của Việt Nam và Đông Nam Á
- Phòng ngừa
 - TẦM SOÁT – CHẨN ĐOÁN TRƯỚC SINH

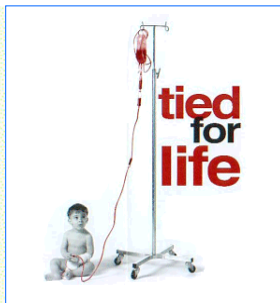
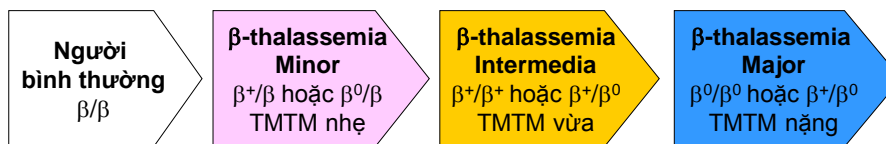
Các thể bệnh α -thalassemia

$(\alpha\alpha/\alpha\alpha)$ Người bình thường

$(--/--)$ Phù thai, thai thai chết lưu	$(--/-\alpha)$ Bệnh Hb H thiếu máu nặng	$(--/\alpha\alpha); (-\alpha/-\alpha)$ α -thalassemia 1 thiếu máu nhẹ	$(-\alpha/\alpha\alpha)$ α -thalassemia 2 Người lành mang gen bệnh
--	---	--	--



Các thể bệnh β -thalassemia



CÁC THỂ HIỂM

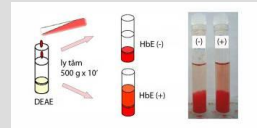
- β -thalassemia trội: kiểu gen dị hợp tử bệnh nặng
- β -thalassemia HbA2 cao bất thường > 6,5%
- β -thalassemia HbA2 bình thường Hb A2 \leq 3,3%

Các phương pháp tầm soát

- WHO: MCH < 27 pg
- Shine & Lal $\frac{MCV^2 \times MCH}{100}$
 - < 1530 : dương tính
- Pearson: MCV < 79fL
- England & Fraser $DF' = MCV - RBC - \frac{5 \times HGB}{100} - 3,4$
 - DF < 0 : dương tính
 - Không áp dụng: thai phụ, MCV > 80 fL
- Mentzer
 - MCV / RBC
 - < 13 : dương tính

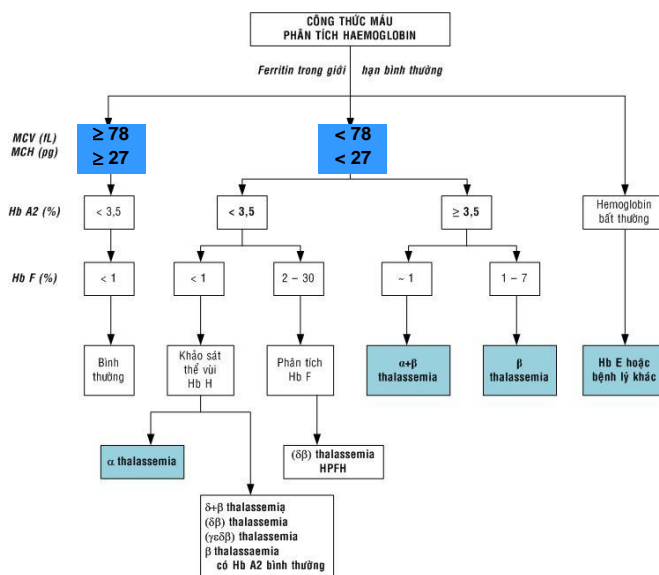
Các phương pháp khác

- OF (osmotic fragility)
- DCIP (2,6-dichloro-phenolindophenol)
- DEAE (diethyl aminoethyl-cellulose) năm 2011



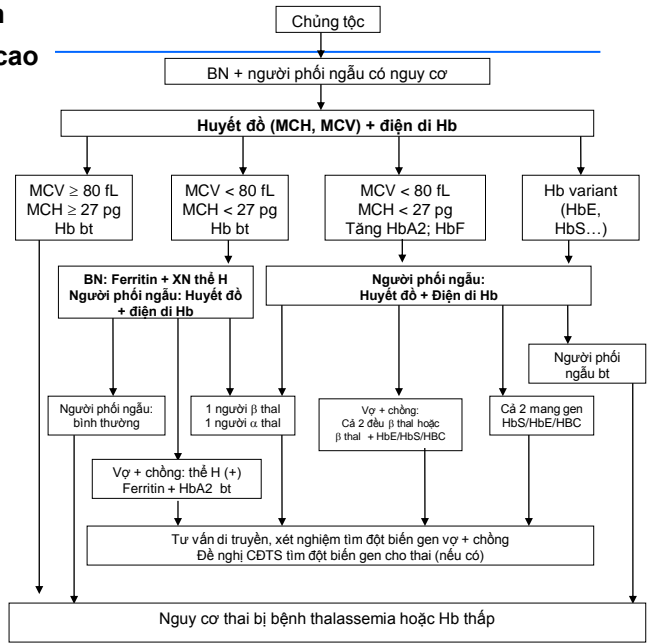
Tầm soát tại Hy Lạp

Tầm soát tất cả mọi người trước hôn nhân, trước sinh
MCV < 78 fL hoặc MCH < 27 pg



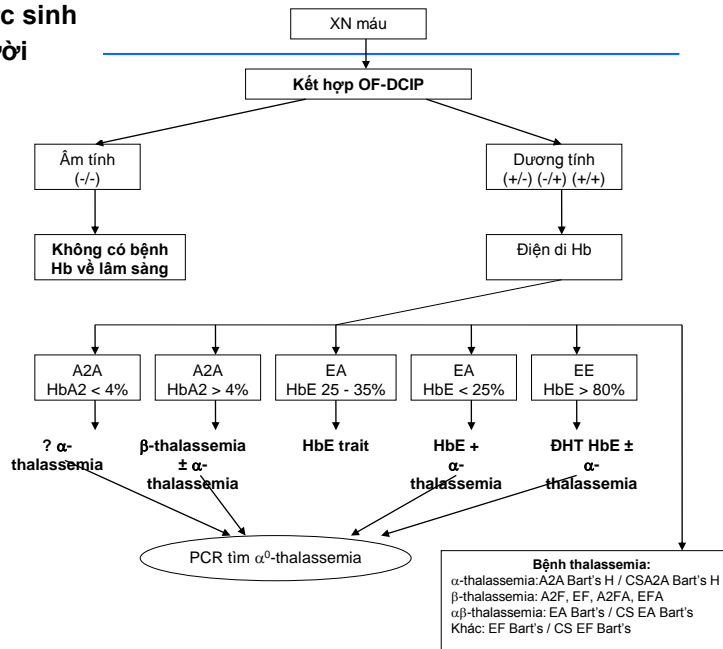
Tầm soát tại Canada

Tầm soát trước sinh
 chủng tộc nguy cơ cao
MCV < 80 fL
MCH < 27 pg
 điện di Hb



Tầm soát tại Thái Lan

Tầm soát trước sinh
 tất cả mọi người
OF
DCIP (HbE)



Câu hỏi

?

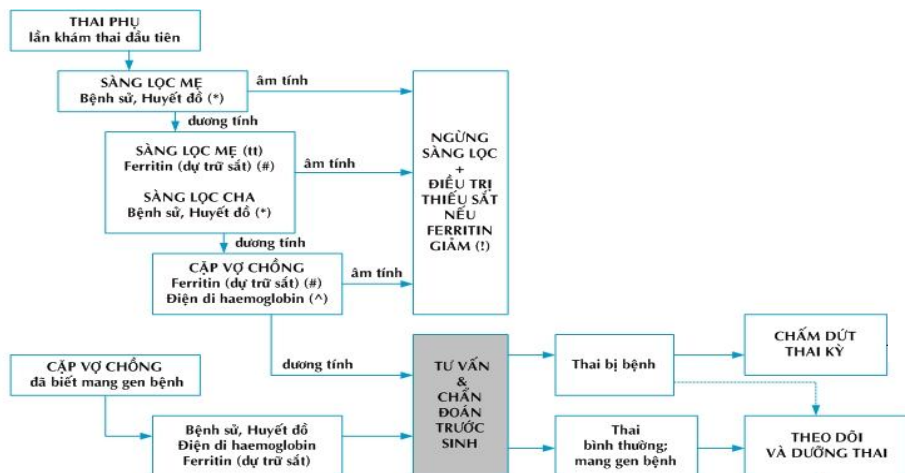
MCH, MCV có giá ra sao trong tầm soát trước sinh α - và β -thalassemia ở Việt Nam?

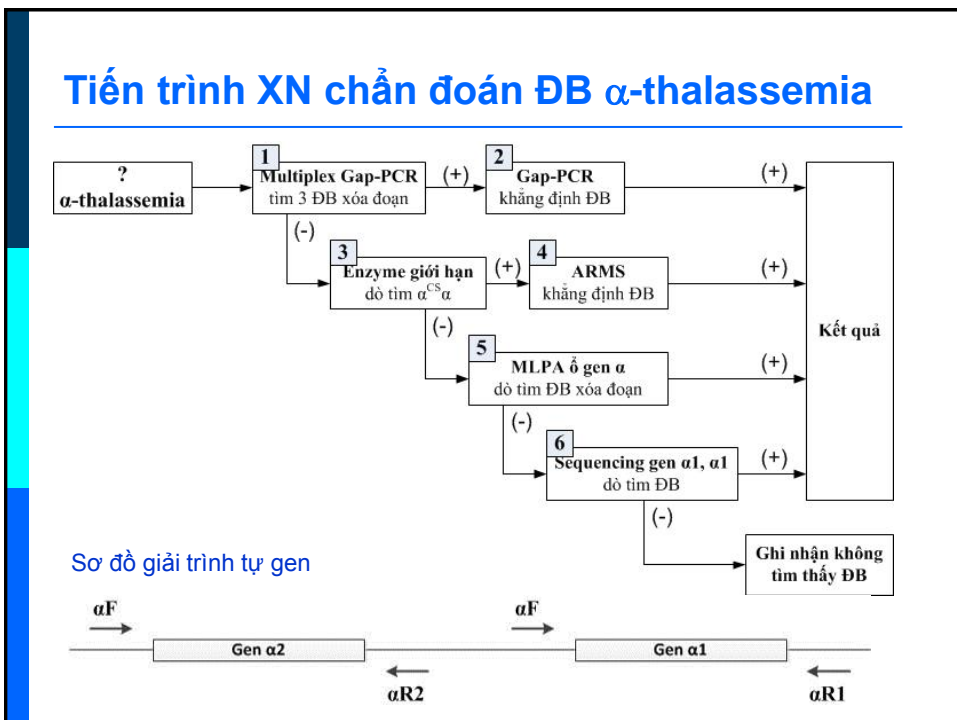
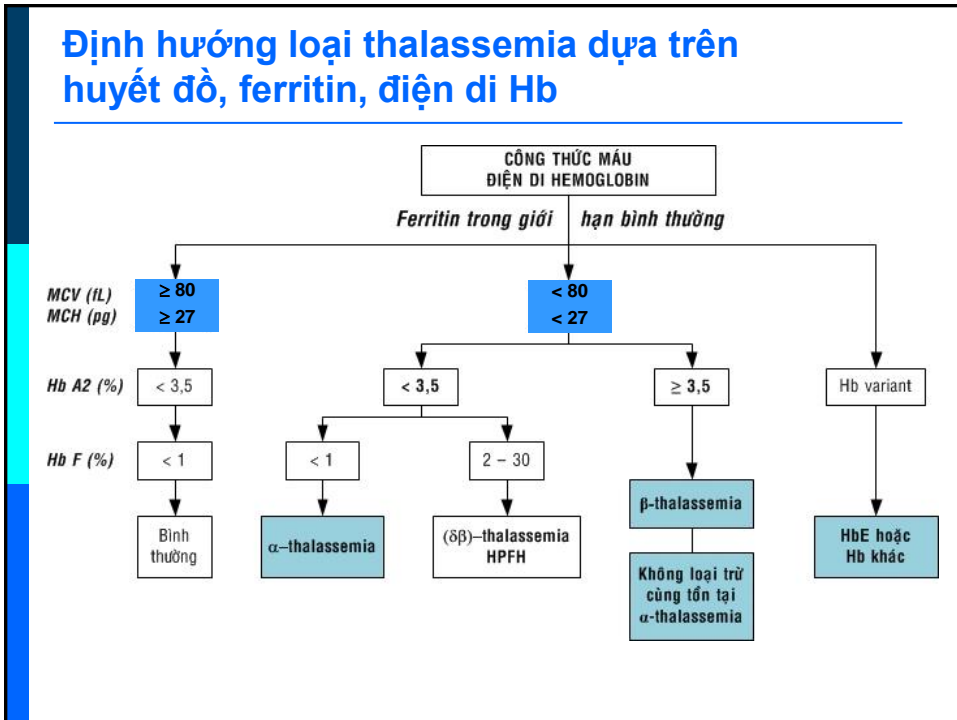
α - và β -thalassemia, loại ĐB thalassemia nào thường gặp hơn?

Đặc điểm kiểu hình của các alen ĐB thalassemia ra sao?

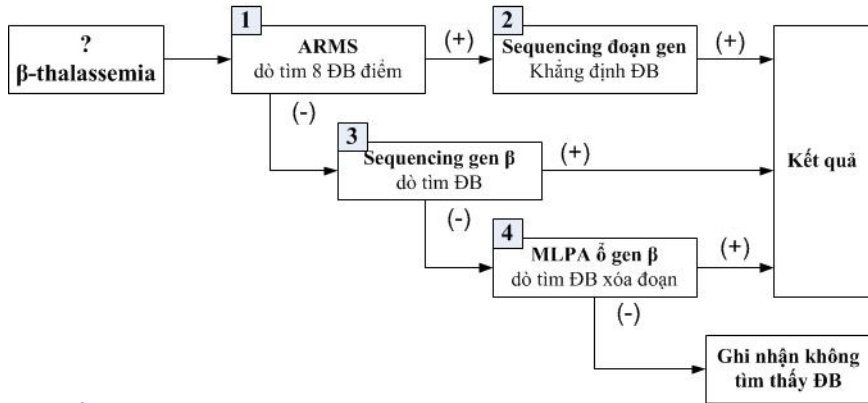
Áp dụng vào tầm soát và chẩn đoán trước sinh α - và β -thalassemia sẽ có hiệu quả như thế nào?

Quy trình tầm soát

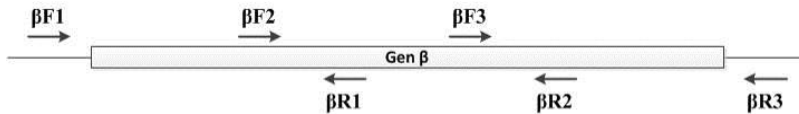




Tiến trình XN chẩn đoán ĐB β -thalassemia



Sơ đồ giải trình tự gen



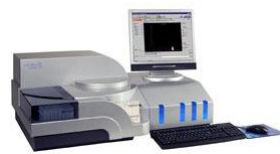
Phương tiện nghiên cứu



Máy XN huyết đồ



Máy XN ferritin



Máy điện di Hb



Máy điện di trên gel



Máy soi gel

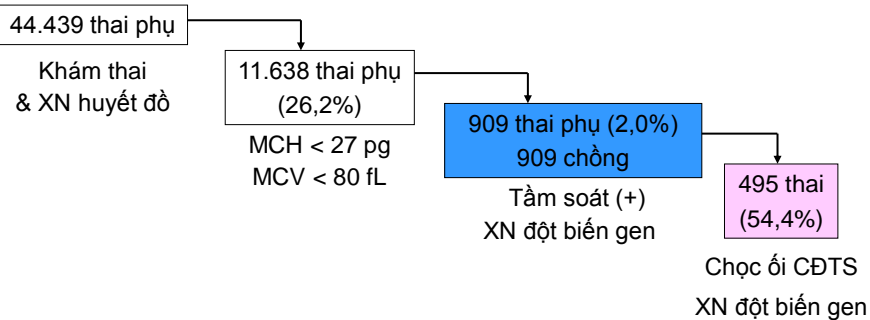


Máy luân nhiệt

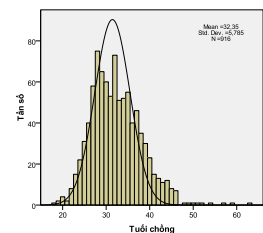
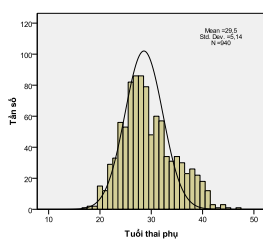


Máy giải trình tự

Kết quả tầm soát



Đặc điểm tuổi, dân tộc và nơi cư ngụ (n = 1.818)



- **Tuổi trung bình**
 - Thai phụ: 29,5 tuổi (ĐL 5,2)
 - Chồng: 32,4 tuổi (ĐL 5,8)

- **Nơi cư ngụ**
 - TPHCM: 49,2%
 - Đông Nam Bộ: 25,2%
 - Tây Nam Bộ: 17,2%
 - Khác: 8,4%

} 91,6%

- **Dân tộc**
 - Kinh: 95,3%
 - Hoa: 2,8%
 - 10 dân tộc khác: 1,9%

Tỉ lệ các trường hợp thalassemia

1.818 thai phụ & chồng
 Không phát hiện được đột biến: 402 người
 Phát hiện đột biến
 495 thai
 Phát hiện đột biến
 Không phát hiện ĐB: 150 thai

	Thai phụ & chồng		Thai	
	Số lượng (n = 1.416)	Tỉ lệ %	Số lượng (n = 345)	Tỉ lệ %
α -thalassemia	924	50,8	229	66,4
β -thalassemia	435	23,9	88	25,5
α - và β -thalassemia	57	3,1	28	8,1

- Li (2006; n = 4890) tại Trung Quốc: α -thal kèm β -thal = 3,2%
- Lưu ý: 13,0% (57 / 435 + 57) Thai phụ & chồng tầm soát β -thalassemia (+) có α -thalassemia kèm theo

Tỉ lệ mang gen thalassemia trong 44.439 thai phụ khám thai tại BVTD

Kiểu gen	Số lượng	Tỉ lệ %
α -thalassemia	494	1,11
β -thalassemia	230	0,52
α - và β -thalassemia	32	0,07
Tổng	756	1,70

- Tương đương với Le Xuan Chat (1968, n = 221) β -thal = 0,5%
- Thấp hơn so với các nghiên cứu khác
 - Weatherall (2011, n=201) α -thal = 6,0%
 - Detraverse (1959, n=225) β -thal = 1,7%
 - Dode (1987; n=42) người VN ở Pháp: α -thal = β -thal = 4%
 - Hurst (1983; n=254) TE Việt Nam ở Mỹ: α -thal = 8,0% ; β -thal = 9,0%

Tỉ lệ các kiểu gen thalassemia được phát hiện

Kiểu gen	Vợ & chồng (n=1473)	Thai (n=373)
Bệnh α-thalassemia	66,6	68,9
α -thalassemia 2	13,7	10,2
α-thalassemia 1	51,6	37,5
Hb H	1,3	5,6
Hb Bart's	-	15,5
Bệnh β-thalassemia	33,4	31,1
β^E/β	18,3	13,9
β^{thal}/β	14,6	11,8
β^E/β^E	0,3	0,8
β^E/β^{thal}	0,1	3,8
Khác	0,1	0,8

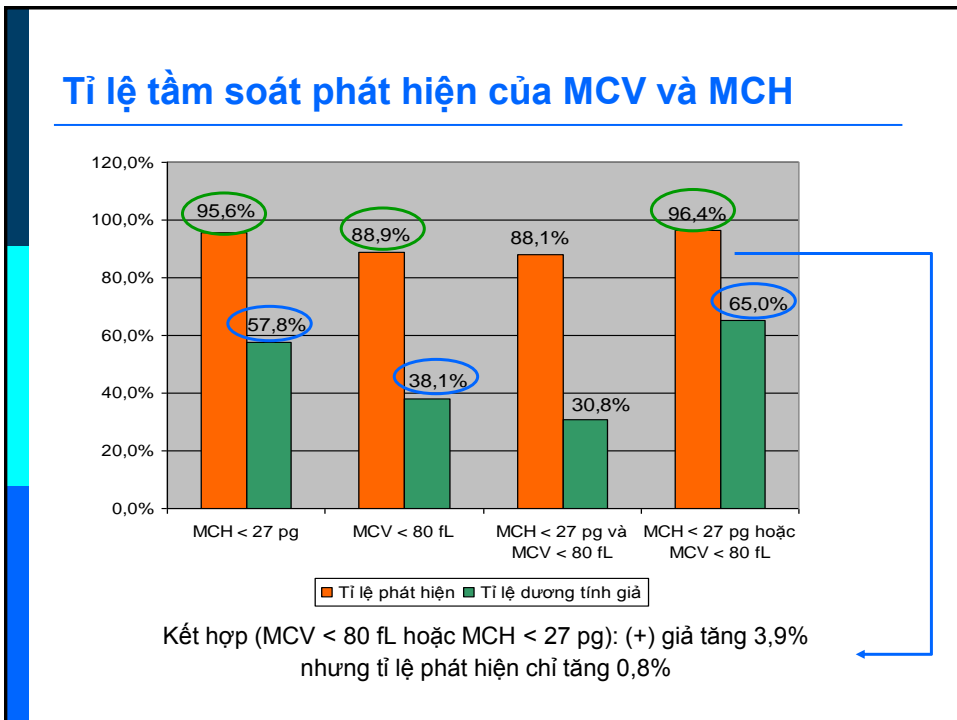
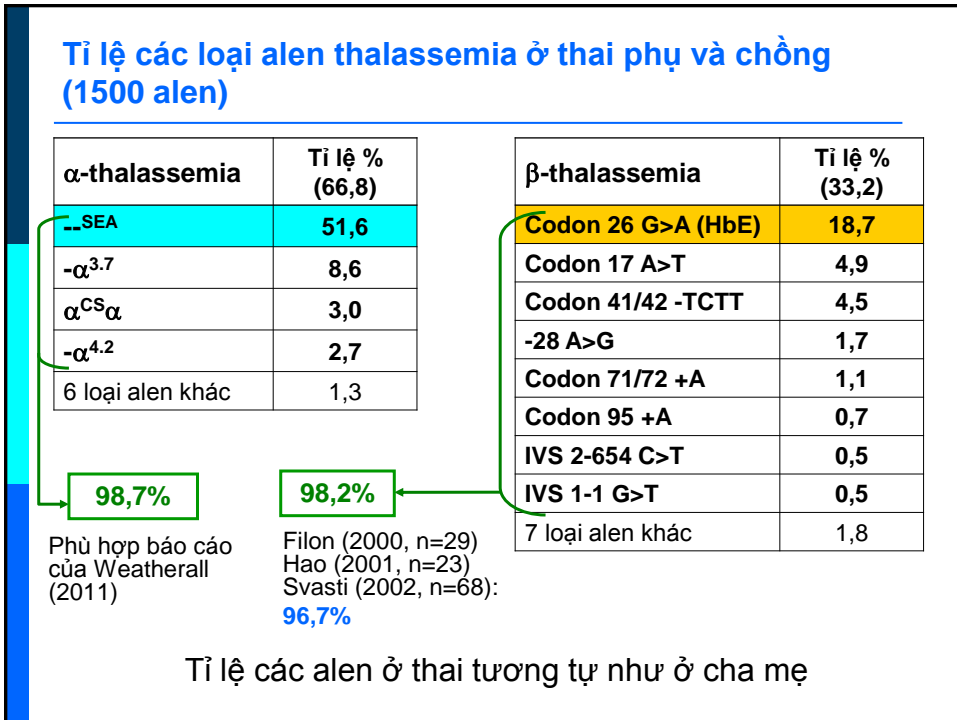
- α -thalas nhiều hơn β -thalas
- gấp 2 lần ở nhóm thai phụ và chồng
 - gấp 2,2 lần ở nhóm thai ($p < 0,01$)

**93 thai (24,9%)
thai kiểu gen nặng**

Tỉ lệ các kiểu gen kép ' α -thal. kèm β -thal.'

α -thalas	β -thalas	Số lượng	%	Tổng số	Tổng %
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$	β^E/β	7	12,3	17	29,8
	β^{thal}/β	10	17,5		
$-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$	β^{thal}/β	1	1,8	1	1,8
$-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$	β^E/β	1	1,8	1	1,8
$--SEA/\alpha\alpha$	β^E/β	24	42,1	37	64,9
	β^{thal}/β	13	22,8		
$--SEA/-\alpha^{3.7}$	β^E/β	1	1,8	1	1,8
Tổng		57	100	57	100

- Li (2006; n = 4890) tại Trung Quốc: α -thal kèm β -thal = 3,2% nhưng không có kiểu gen kép α -thalas kèm β^E/β



Tỉ lệ phát hiện của MCV, MCH theo kiểu gen

Kiểu gen	MCV < 80 fL	MCH < 27 pg
α-thalassemia 2	50,9	80,6
α -thalassemia 1	99,4	99,5
Bệnh HbH	87,5	100,0
$\beta^{\text{Thal}}/\beta$	98,9	99,4
β^{E}/β	80,2	91,9
$\beta^{\text{E}}/\beta^{\text{E}}$	100	100
$\delta\beta^{\text{Thal}}/\beta$	100	100
$\beta^{\text{E}}/\beta^{\text{Thal}}$	100	100
α-thalassemia 2 & β^{E}/β	14,3	85,7
α -thalassemia 1 & $\beta^{\text{Thal}}/\beta$	92,3	100
α -thalassemia 1 & β^{E}/β	100	100
Hb H & β^{E}/β	100	100

Chan (2001, n = 1.727)

- MCV (< 80 fL):
 α -thal 2 = 0,5%
- MCV (80–85 fL):
 α -thal 2 = 1,8%, β^{E}/β = 0,2%

Rogers (1995)

- MCV tăng 4 fL/8 giờ ở nhiệt độ phòng
- mang thai là yếu tố gây thiếu máu hồng cầu to (tăng MCV)

Pranpanus (2009, n = 396 thai phụ)

- MCH < 26,5 pg chỉ phát hiện 55,3% β^{E}/β
→ sử dụng DCIP để tầm soát thêm

Đặc điểm huyết học các đối tượng nghiên cứu

Chỉ số trung bình	Chồng (n=621)	Thai phụ (n=638)
SLHC ($\times 10^{12}/L$)	5,8 (ĐLC 0,7)	4,7 (ĐLC 0,6)
HgB (g/dL)	13,7 (ĐLC 1,5)	10,8 (ĐLC 1,3)
Hct (%)	42,9 (ĐLC 3,8)	33,9 (ĐLC 3,8)
MCV (fL)	73,5 (ĐLC 7,3)	72,5 (ĐLC 7,3)
MCH (pg)	23,8 (ĐLC 3,3)	23,2 (ĐLC 2,7)
Ferritin (ng/mL)	272,1 (ĐLC 179,5)	78,6 (ĐLC 80,6)

- Trần Văn Bé (1988) và Sheiner (2004):
Mang thai là yếu tố cộng hưởng làm giảm Hb và Hct nhiều ở thai phụ

MCV, MCH trung bình theo kiểu gen α -thalassemia

Kiểu gen	MCV (ĐLC)		MCH (ĐLC)	
	thai phụ	chồng	thai phụ	chồng
α-thalassemia 2	79,9 (3,9)	79,9 (3,8)	26,0 (1,4)	26,1 (1,3)
α -thalassemia 1	68,6 (4,5)	68,7 (3,3)	21,6 (1,5)	21,2 (1,3)
Bệnh HbH	70,0 (9,1)	62,4 (4,8)	20,0 (2,2)	17,9 (2,2)

Kiểu gen α -thalassemia 2 có đặc điểm tương tự với:

* Hartevelde (2010): MCV Tb 79 – 80 fL MCH Tb 25 – 26 pg

* Galanello (1998): MCV Tb 75,4 – 79 fL MCH Tb 25,4 – 26,1 pg

=> sử dụng MCV < 80 fL có thể bỏ sót α -thalassemia 2

MCV, MCH trung bình theo kiểu gen β -thalassemia

Kiểu gen	MCV (ĐLC)		MCH (ĐLC)	
	thai phụ	chồng	thai phụ	chồng
$\beta^{\text{Thal}}/\beta$	66,7 (4,8)	65,4 (6,1)	21,1 (1,9)	20,6 (1,7)
β^{E}/β	77,5 (2,9)	77,2 (3,7)	25,4 (1,2)	25,3 (1,5)
$\beta^{\text{E}}/\beta^{\text{E}}$	62	69,3 (8,5)	20,0	22,2 (0,7)
$\beta^{\text{E}}/\beta^{\text{Thal}}$	71,5	69,5	19,9	-

Yeo (1994, n = 3.696 thai phụ) tầm soát β -thalassemia với MCV < 80 fL

kiểu gen β^{E}/β : MCV Tb 75,7 fL (ĐLC 4,1)

→ sử dụng MCV < 80 fL có thể bỏ sót dị hợp tử HbE

MCV, MCH trung bình theo kiểu gen α -thalassemia kèm dị hợp tử β -thalassemia hoặc HbE

Kiểu gen (kèm β^{Thal}/β ; β^{Thal}/β)	MCV (ĐLC)	MCH (ĐLC)
α-thalassemia 2	72,8 (8,6)	23,3 (2,7)
α -thalassemia 1	68,5 (7,3)	21,8 (2,0)
Bệnh HbH	51,8	13,9

Thấp hơn so với α -thalassemia 2 hoặc β^E/β đơn thuần

MCV 79,9 fL
MCH 26,0 pg

MCV 75,2 fL
MCH 25,3 pg

Tỉ lệ trung bình các loại Hb theo kiểu gen α -thalassemia

	α -thalassemia 2		α -thalassemia 1		Bệnh HbH	
	thai phụ	chồng	thai phụ	chồng	thai phụ	chồng
HbA2 (%)	2,7 (n=81)	2,6 (n=92)	2,4 (n=360)	2,4 (n=294)	2,1 (n=10)	0,7 (n=6)
HbF (%)	0,8 (n=81)	0,3 (n=92)	0,4 (n=360)	0,2 (n=294)	0,4 (n=10)	0,3 (n=6)
HbH (%)	0,8 (n=1)	0,6 (n=1)	-	-	8,6 (n=5)	12,8 (n=4)
HbCS (%)	0,5 (n=2)	-	-	-	-	-
Hb Bart's (%)	-	-	-	-	0,6 (n=2)	0,6 (n=4)

- Rất ít trường hợp có HbH, HbCS và Hb Bart's.
- Đa số trường hợp α -thalassemia có thành phần Hb không đặc trưng.

Tỉ lệ trung bình các loại Hb theo kiểu gen β -thalassemia

	HbA2 (%)		HbF (%)		HbE (%)	
	thai phụ	chồng	thai phụ	chồng	thai phụ	chồng
β^{Thal}/β	5,5 (n=105)	5,5 (n=76)	2,5 (n=105)	1,6 (n=76)	-	-
β^E/β	3,9 (n=113)	4,0 (n=115)	0,8 (n=113)	1,2 (n=115)	24,5 (n=110)	24,5 (n=115)
β^E/β^E	0 (n=1)	4,8 (n=3)	3,7 (n=1)	5,5 (n=3)	87,2 (n=1)	89,7 (n=3)
β^{Thal}/β^E	4,1 (n=1)	4,0 (n=1)	57,0 (n=1)	-	38,9 (n=1)	24,9 (n=1)

Tỉ lệ trung bình các loại Hb theo kiểu gen α -thalassemia kèm dị hợp tử β -thalassemia hoặc HbE

β^E/β đơn thuần: 24,5%

	HbA2 (%)	HbF (%)	HbE (%)
α -thalas. 2	5,3 (ĐLC 5,3) (n=18)	0,8 (ĐLC 1,1) (n=18)	21,5 (ĐLC 1,2) (n=7)
α -thalas. 1	4,4 (ĐLC 4,4) (n=37)	0,6 (ĐLC 1,2) (n=37)	15,5 (ĐLC 1,5) (n=23)
Bệnh HbH	3,6 (n=1)	1,0 (n=1)	10,8 (n=1)

95% các trường hợp kiểu gen α -thalassemia 1 kèm β^E/β có HbE \leq 18,2%

Tỉ lệ HbA2 > 3,5% trong các trường hợp β -thalassemia và HbE

Kiểu gen	Hb A2 \leq 3,5 %		HbA2 > 3,5 %	
	Số lượng	Tỉ lệ %	Số lượng	Tỉ lệ %
$\beta^{\text{Thal}}/\beta$ (n=205)	4	2,0	201	98,0
Đột biến HbE (n=264)	72	27,3	192	72,7
β^{E}/β (n=260)	71	27,3	189	72,7
$\beta^{\text{E}}/\beta^{\text{E}}$ (n=4)	1	25,0	3	75,0

Rogers (1995): dùng HbA2 > 3,5% để xác định β -thalassemia

Kết luận

Tỉ lệ các loại alen đột biến α -thalassemia và β -thalassemia

- 1 ĐB α -thalassemia phổ biến gấp 2,0 lần β -thalassemia ($p < 0,01$)
Tỉ lệ: 65,3% α -thal. + 30,7% β -thal. + 4,0% α -thal kèm β -thal
- 2 Alen ĐB thường gặp nhất --SEA (51,6%) và HbE (18,7%).

Khả năng phát hiện thalassemia của MCV < 80 fL và MCH < 28 pg

- 3 MCH < 28 pg có tỉ lệ phát hiện gấp 1,09 lần MCV < 80 fL ($p < 0,05$)
- 4 Tỉ lệ phát hiện thalassemia:
MCH < 28 pg: 98,7% (+ giả 69,2%); MCV < 80 fL: 88,5% (+ giả 26,6%)

Kiểu hình huyết học của các kiểu gen thalassemia

- 5 α -thalassemia 1 và 2 có kết quả điện di Hb không đặc trưng
HbA2 > 3,5% có thể che giấu kiểu gen α -thal kèm β -thalassemia

CẢM ƠN

