

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



NGUYỄN THỊ MAI

**NGHIÊN CỨU PHÁT HIỆN BỆNH NHÂN
VÀ NGƯỜI MANG GEN BỆNH HEMOPHILIA A
DỰA TRÊN PHÂN TÍCH PHẢ HỆ**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - 2018

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI

NGUYỄN THỊ MAI

**NGHIÊN CỨU PHÁT HIỆN BỆNH NHÂN
VÀ NGƯỜI MANG GEN BỆNH HEMOPHILIA A
DỰA TRÊN PHÂN TÍCH PHẢ HỆ**

Chuyên ngành: Huyết học và Truyền máu

Mã số : 62720151

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

- 1. GS. TS Nguyễn Anh Trí**
- 2. PGS.TS Nguyễn Thị Nữ**

HÀ NỘI - 2018

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Nguyễn Thị Mai, nghiên cứu sinh khóa 30 - Trường Đại học Y Hà Nội, chuyên ngành Huyết học và Truyền máu, xin cam đoan:

1. Đây là luận án do tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của GS.TS. Nguyễn Anh Trí – Nguyên Viện trưởng Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương, Nguyên Phó Chủ nhiệm Bộ môn Huyết học và Truyền máu, Trường Đại học Y Hà Nội và PGS.TS. Nguyễn Thị Nữ - Nguyên Trưởng khoa Đông máu - Viện Huyết học Truyền máu Trung ương.
2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.
3. Các số liệu và thông tin trong nghiên cứu là chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nơi nghiên cứu.

Tôi hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật về những cam kết này.

Hà Nội, ngày 25 tháng 01 năm 2018

LỜI CẢM ƠN

Trong suốt quá trình học tập và thực hiện luận án này, tôi đã nhận được sự hướng dẫn, chỉ bảo, giúp đỡ tận tình của các thầy cô, các anh chị và các bạn đồng nghiệp. Với lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc nhất, tôi xin được bày tỏ lời cảm ơn chân thành tới:

- Đảng ủy, Ban Giám hiệu, Phòng Quản lý Đào tạo Sau đại học, Bộ môn Huyết học - Truyền máu - Trường Đại học Y Hà Nội đã tạo điều kiện, giúp đỡ tôi hoàn thành luận án Tiến sĩ.

- Đảng ủy, Ban Lãnh đạo Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương, Hội đồng khoa học, các khoa/phòng của Viện đã ủng hộ và tạo mọi điều kiện cho tôi trong quá trình công tác và thực hiện đề tài nghiên cứu.

Xin được bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới:

- **GS.TS. Nguyễn Anh Trí** - Nguyên Viện trưởng Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương, người thầy đã tận tình hướng dẫn, truyền đạt cho tôi những kiến thức, phương pháp nghiên cứu khoa học vô cùng quý giá; động viên và tạo điều kiện tốt nhất cho tôi trong suốt quá trình thực hiện luận án.

- **GS.TS. Phạm Quang Vinh** - Chủ nhiệm Bộ môn Huyết học - Truyền máu, người thầy dành nhiều tâm sức đào tạo, hướng dẫn và động viên giúp đỡ để tôi có được những kiến thức giá trị, những ý kiến rất quý báu trong suốt thời gian học tập và thực hiện nghiên cứu này.

- **PGS.TS. Nguyễn Thị Nữ** - Nguyên Trưởng khoa Đông máu - Viện Huyết học Truyền máu Trung ương, người thầy đã tận tình hướng dẫn, truyền đạt cho tôi những kiến thức, phương pháp nghiên cứu khoa học vô cùng quý giá; giúp đỡ và động viên tôi trong suốt quá trình thực hiện luận án.

- **TS. Bạch Quốc Khánh** - Viện trưởng Viện Huyết học - Truyền máu

Trung ương, người thầy đã luôn truyền đạt cho tôi những kiến thức chuyên môn quý báu, động viên và tạo điều kiện tốt nhất cho tôi trong suốt quá trình công tác và thực hiện luận án này.

- Tập thể cán bộ trung tâm Hemophilia, khoa Đông máu, khoa Di truyền sinh học phân tử, khoa Tế bào tổ chức học và những đồng nghiệp tại Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương đã dành cho tôi những tình cảm quý mến, sự động viên kịp thời, cũng như sự hỗ trợ, chia sẻ trong công việc và trong quá trình học tập. Các anh chị và các bạn đã góp phần không nhỏ vào sự thành công của luận án.

Tôi xin chân thành cảm ơn PGS.TS Trần Văn Khánh và Trung tâm Nghiên cứu Gen – Protein trường Đại học Y Hà Nội đã tạo điều kiện giúp đỡ tôi trong thời gian thực hiện nghiên cứu tại đây.

Xin được gửi lời cảm ơn tới các thầy cô trong hội đồng chấm luận án cấp cơ sở, cấp nhà trường đã cho em những đóng góp quý báu để luận án được hoàn thiện hơn.

Xin trân trọng cảm ơn GS.TSKH Đỗ Trung Phấn – Nguyên viện trưởng viện Huyết học – Truyền máu, nguyên Chủ nhiệm Bộ môn Huyết học – Truyền máu, người thầy đầu tiên đã định hướng và động viên em đi theo con đường chăm sóc người bệnh hemophilia.

Tôi xin chân thành cảm ơn các bệnh nhân hemophilia và người nhà bệnh nhân đã luôn tin tưởng và ủng hộ, hợp tác với tôi trong suốt quá trình tôi làm việc và nghiên cứu tại trung tâm Hemophilia, Viện Huyết học – Truyền máu để tôi hoàn thành luận án này.

Con xin được bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến Bố Mẹ, Anh Chị Em và những người thân trong gia đình nội ngoại hai bên đã thường xuyên động viên, khích lệ, giúp con chuyên tâm học tập, nghiên cứu. Xin chân thành cảm ơn Chồng và các Con thân yêu, những người đã hi sinh rất nhiều cho sự

nghiệp của tôi, là nguồn động lực để tôi không ngừng phấn đấu. Xin cảm ơn bạn bè đã chia sẻ, giúp đỡ tôi mọi mặt trong quá trình học tập và hoàn thành luận án tốt nghiệp này.

Hà Nội, tháng 01 năm 2018

Nguyễn Thị Mai

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN	ii
MỤC LỤC	v
DANH MỤC CÁC BẢNG	viii
DANH MỤC CÁC HÌNH	xi
DANH MỤC CÁC SƠ ĐỒ	xii
DANH MỤC CÁC BIỂU ĐỒ	xiii
DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT	xivv
ĐẶT VẤN ĐỀ	1
Chương 1. TỔNG QUAN	3
1.1. Bệnh hemophilia.....	3
1.1.1. Định nghĩa.....	3
1.1.2. Đặc điểm di truyền	3
1.1.3. Chẩn đoán	3
1.2. Cơ sở di truyền yếu tố VIII	4
1.2.1. Đặc điểm sinh học yếu tố VIII.....	4
1.2.2. Vị trí và cấu trúc của gen mã hóa yếu tố VIII	5
1.2.3. Các dạng đột biến gen yếu tố VIII gây bệnh hemophilia A	7
1.3. Các phương pháp chẩn đoán người mang gen	9
1.3.1. Phân tích phả hệ	10
1.3.2. Phân tích yếu tố đông máu.....	16
1.3.3. Phân tích tổn thương di truyền	18
1.4. Chẩn đoán trước sinh.....	22
1.4.1. Sinh thiết gai rau.....	22
1.4.2. Chọc ối	23
1.4.3. Định lượng nồng độ yếu tố đông máu của thai nhi	23

1.4.4. Chẩn đoán giới tính thai nhi	23
1.5. Điều trị.....	24
1.5.1. Kiểm soát chảy máu	24
1.5.2. Dự phòng chảy máu	24
1.6. Phát hiện hemophilia và người mang gen	24
1.6.1. Phát hiện bệnh nhân hemophilia	25
1.6.2. Phát hiện người mang gen hemophilia	27
Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	31
2.1. Đối tượng nghiên cứu.....	31
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu	31
2.1.2. Tiêu chuẩn lựa chọn và loại trừ.....	31
2.2. Phương pháp nghiên cứu	34
2.2.1. Thiết kế nghiên cứu	34
2.2.2. Các chỉ số nghiên cứu.....	34
2.2.3. Phương pháp chọn mẫu, các bước tiến hành	36
2.3. Các tiêu chuẩn đánh giá, kỹ thuật sử dụng.....	40
2.3.1. Các tiêu chuẩn chẩn đoán.....	40
2.3.2. Các kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu.....	43
2.4. Phương pháp xử lí và phân tích số liệu	52
2.4.1. Mô tả kết quả.....	52
2.4.2. Đánh giá sự khác biệt	52
2.4.3. Tính giá trị chẩn đoán tình trạng mang gen của tỉ số VIII/vWF:Ag bằng cách phân tích đường cong ROC.....	52
2.5. Đạo đức trong nghiên cứu	55
2.6. Thời gian nghiên cứu.....	55
2.7. Địa điểm nghiên cứu	55
Chương 3. KẾT QUẢ.....	56
3.1. Một số đặc điểm của bệnh nhân gốc	56

3.1.1. Số lượng, giới, tuổi.....	56
3.1.2. Phân bố bệnh nhân gốc theo tiền sử chảy máu trong gia đình ..	56
3.1.3. Mức độ bệnh và tổn thương di truyền của bệnh nhân gốc	57
3.2. Phát hiện bệnh nhân mới và người mang gen bệnh	58
3.2.1. Phát hiện bệnh nhân mới	59
3.2.2. Phát hiện người mang gen bệnh	64
3.3. Đặc điểm của bệnh nhân và người mang gen mới được chẩn đoán.....	86
3.3.1. Đặc điểm của bệnh nhân mới	86
3.3.2. Đặc điểm của người mang gen bệnh	96
Chương 4. BÀN LUẬN	103
4.1. Đặc điểm của bệnh nhân gốc.....	103
4.1.1. Về tuổi và giới.....	103
4.1.2. Về tỉ lệ có tiền sử gia đình	103
4.1.3. Về mức độ bệnh	104
4.1.4. Về đặc điểm tổn thương di truyền	104
4.2. Về việc phát hiện bệnh nhân mới và người mang gen dựa vào phân tích phả hệ.....	105
4.2.1. Phát hiện bệnh nhân mới:.....	107
4.2.2. Phát hiện người mang gen bệnh	111
4.3. Đặc điểm của bệnh nhân và người mang gen mới được chẩn đoán...	120
4.3.1. Đặc điểm của bệnh nhân mới	120
4.3.2. Đặc điểm của người mang gen bệnh	128
KẾT LUẬN.....	139
KIẾN NGHỊ.....	141
DANH MỤC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN ĐÃ ĐƯỢC CÔNG BỐ	
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1.1: Một số biểu tượng quy ước trong vẽ phả hệ [28]	11
Bảng 2.1. Ý nghĩa của các ký hiệu sử dụng trong phả hệ	43
Bảng 2.2. Diễn giải ý nghĩa của diện tích dưới đường biểu diễn ROC (AUC) ..	54
Bảng 3.1. Tồn thương di truyền của bệnh nhân gốc	57
Bảng 3.2. Số lượng thể hệ khai thác được thông tin	58
Bảng 3.3. Số người có liên quan đến hemophilia trong các gia đình.....	58
Bảng 3.4. Phân bố người liên quan đến hemophilia theo phả hệ	59
Bảng 3.5. Kết quả phát hiện nam giới nghi ngờ bị hemophilia qua sàng lọc bằng bảng hỏi	60
Bảng 3.6. Tỷ lệ người nghi ngờ bị bệnh được làm xét nghiệm chẩn đoán bằng định lượng yếu tố đông máu	60
Bảng 3.7. Kết quả xét nghiệm chẩn đoán của những người nghi ngờ bị bệnh...	61
Bảng 3.8. Đặc điểm của những người có biểu hiện chảy máu bất thường đã tử vong.....	62
Bảng 3.9. Nguyên nhân tử vong của các thành viên có biểu hiện chảy máu bất thường.....	63
Bảng 3.10. Quan hệ của bệnh nhân mới được chẩn đoán với bệnh nhân gốc qua phân tích phả hệ	65
Bảng 3.11. Kết quả phát hiện người chắc chắn mang gen qua phân tích phả hệ..	65
Bảng 3.12. Kết quả phát hiện người có khả năng mang gen.....	65
Bảng 3.13. Tỷ lệ phát hiện người mang gen theo mức độ bệnh của bệnh nhân gốc	66
Bảng 3.14. Quan hệ của người mang gen với bệnh nhân gốc	67
Bảng 3.15. Kết quả chẩn đoán tình trạng mang gen bằng phân tích trực tiếp đột biến gen F8	70

Bảng 3.16. Kết quả phân tích PCR-RFLP.....	71
Bảng 3.17. Kết quả chẩn đoán tình trạng mang gen bằng phân tích di truyền .	72
Bảng 3.18. Tỷ lệ phát hiện người mang gen qua phân tích phả hệ kết hợp với phân tích di truyền	73
Bảng 3.19. So sánh nồng độ yếu tố đông máu giữa người bình thường và người mang gen bệnh.....	78
Bảng 3.20. Kết quả tính độ nhạy và độ đặc hiệu của tỉ số VIII/vWF:Ag trong chẩn đoán người mang gen bệnh hemophilia A	79
Bảng 3.21. So sánh kết quả chẩn đoán tình trạng mang gen bằng tỉ số VIII/vWF:Ag với kết quả phân tích di truyền gen F8	80
Bảng 3.22: Phối hợp áp dụng phân tích phả hệ, tỉ số VIII/vWF:Ag và phân tích PCR-RFLP trong chẩn đoán người mang gen và chẩn đoán trước sinh	83
Bảng 3.23. Thời điểm được chẩn đoán của các bệnh nhân mới (tuổi)	86
Bảng 3.24. Phân loại bệnh nhân mới theo thể bệnh	87
Bảng 3.25. Phân bố bệnh nhân mới theo mức độ bệnh.....	91
Bảng 3.26. Đặc điểm xét nghiệm đông cầm máu của bệnh nhân được chẩn đoán mới	94
Bảng 3.27. Đặc điểm về tuổi của người mang gen, người có khả năng mang gen và nhóm phụ nữ bình thường	96
Bảng 3.28. Kết quả phân tích PCR-RFLP với MseI và định lượng yếu tố đông máu của gia đình số 77	97
Bảng 3.29. Đặc điểm kết quả xét nghiệm APTT và kháng đông nội sinh....	99
Bảng 3.30. Sự liên quan giữa APTT và triệu chứng xuất huyết.....	100
Bảng 3.31. Đặc điểm nồng độ yếu tố VIII ở nhóm người mang gen	100
Bảng 3.32. So sánh nồng độ yếu tố VIII giữa những người mang gen hemophilia mức độ khác nhau	101

Bảng 3.33. So sánh nồng độ yếu tố VIII ở người mang gen mức độ nặng có đảo đoạn intron 22 và không có đảo đoạn intron 22	101
Bảng 3.34. Liên quan giữa nồng độ yếu tố VIII và tình trạng xuất huyết..	102
Bảng 3.35. Liên quan giữa nồng độ yếu tố VIII với rong kinh và	102
Bảng 4.1. Tỷ lệ bệnh nhân theo mức độ bệnh trong một số nghiên cứu	104
Bảng 4.2. Tỷ lệ người đã tử vong có biểu hiện chảy máu bất thường trong các nghiên cứu	109
Bảng 4.3. Tỷ lệ phát hiện bệnh nhân mới trong một số nghiên cứu.....	111
Bảng 4.4. Tỷ lệ phát hiện người chắc chắn mang gen dựa vào phân tích phá hệ trong một số nghiên cứu.....	112
Bảng 4.5. Kết quả nồng độ yếu tố đông máu ở người mang gen và người bình thường trong một số nghiên cứu	116
Bảng 4.6. Giá trị ngưỡng của tỉ số VIII/vWF:Ag trong chẩn đoán tình trạng mang gen hemophilia A ở một số nghiên cứu.....	118
Bảng 4.7. Biểu hiện chảy máu ở bệnh nhân hemophilia trong một số nghiên cứu	123
Bảng 4.8. Kết quả xét nghiệm đông máu ở các bệnh nhân hemophilia trong một số nghiên cứu.....	126
Bảng 4.9. Vị trí chảy máu của người mang gen trong một số nghiên cứu .	131
Bảng 4.10. Nồng độ yếu tố VIII của người mang gen trong một số nghiên cứu..	134
Bảng 6.1. Kết quả chẩn đoán tình trạng mang gen của một số thành viên nữ gia đình số 18.....	161
Bảng 6.2. Kết quả chẩn đoán tình trạng mang gen của một số thành viên nữ gia đình số 23.....	162
Bảng 6.3. Kết quả chẩn đoán tình trạng bị bệnh của các thành viên.....	166

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1: Cấu trúc gen và protein yếu tố VIII	6
Hình 1.2. Cơ chế gây đột biến đảo đoạn intron 1 và intron 22 của gen F8 (b1, b2)	8
Hình 1.3. Phả hệ gia đình Nữ hoàng Anh Victoria [32].....	15
Hình 2.1. Hình ảnh phân tích đa hình BclI trên intron 18 bằng phương pháp PCR-RFLP	49
Hình 2.2. Hình ảnh điện di phát hiện đảo đoạn intron 22 bằng phương pháp Longrange - PCR.....	50
Hình 3.1. Hình ảnh điện di sản phẩm PCR phát hiện đảo đoạn intron 22 ở gia đình bệnh nhân Lưu Thế Q. (số 55)	82
Hình 3.2. Kết quả phân tích PCR-RFLP với BclI/intron 18 của gia đình bệnh nhân Hoàng Quốc V. (số 54).....	84
Hình 3.3. Kết quả chẩn đoán di truyền, chẩn đoán tình trạng mang gen và chẩn đoán trước sinh của các thành viên gia đình số 54 bằng giải trình tự gen.....	85
Hình 3.4 và 3.5. Biến dạng và hạn chế vận động khớp khuỷu và cổ chân ở bệnh nhân Hoàng Văn C.(Thanh Hóa).....	93

DANH MỤC CÁC SƠ ĐỒ

Sơ đồ 1.1. Ký hiệu phả hệ.....	12
Sơ đồ 1.2. Sơ đồ di truyền bệnh hemophilia 1	13
Sơ đồ 1.3. Sơ đồ di truyền bệnh hemophilia 2	13
Sơ đồ 1.4. Sơ đồ di truyền bệnh hemophilia 3	14
Sơ đồ 2.1. Sơ đồ nghiên cứu	39
Sơ đồ 3.1 Phả hệ gia đình bệnh nhân Nguyễn Quang M. (số 26).....	68
Sơ đồ 3.2. Phả hệ gia đình bệnh nhân Hà Đỗ C. (số 82).....	69
Sơ đồ 3.3. Phả hệ của gia đình bệnh nhân Mai Văn H. (số 13) trước khi phân tích di truyền	74
Sơ đồ 3.4. Phả hệ của gia đình bệnh nhân Mai Văn H. (số 13) sau khi phân tích di truyền.....	74
Sơ đồ 3.5. Phả hệ gia đình bệnh nhân Phạm Hữu B. (số 16)	76
Sơ đồ 3.6. Phả hệ gia đình bệnh nhân Lưu Thế Q. (số 55) trước khi phân tích di truyền và tỉ số VIII/vWF:Ag.....	81
Sơ đồ 3.7. Phả hệ gia đình bệnh nhân Lưu Thế Q. (số 55) sau khi phân tích di truyền và tỉ số VIII/vWF:Ag.....	82
Sơ đồ 3.8. Sơ đồ phả hệ gia đình bệnh nhân Hoàng Quốc V. (số 54).....	84
Sơ đồ 3.9. Phả hệ gia đình bệnh nhân Hoàng Minh D. (số 44).....	88
Sơ đồ 3.10. Phả hệ gia đình bệnh nhân Nguyễn Như T. (số 77).....	90
Sơ đồ 3.11. Phả hệ gia đình vợ bệnh nhân Nguyễn Như T. (số 77).....	90
Sơ đồ 4.1. Xác suất cho mỗi lần sinh con của cặp vợ chồng có vợ là người mang gen hemophilia A kết hợp hemophilia B và chồng bình thường	130
Sơ đồ 6.1 Phả hệ gia đình bệnh nhân Trần Tiến Đ. (số 18)	160
Sơ đồ 6.2. Phả hệ gia đình bệnh nhân Phạm Ngọc T. (số 23).....	161
Sơ đồ 6.3. Phả hệ bệnh nhân Nguyễn Đăng D. (số 98).....	163
Sơ đồ 6.4. Phả hệ bệnh nhân Đỗ Bá Th. (số 71)	165

DANH MỤC CÁC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 2.1: Đường cong ROC của một chỉ số nghiên cứu	53
Biểu đồ 2.2. Diện tích dưới đường biểu diễn (AUC) của biểu đồ ROC.....	54
Biểu đồ 3.1. Phân bố bệnh nhân gốc theo tiền sử chảy máu trong gia đình...	56
Biểu đồ 3.2. Mức độ bệnh của bệnh nhân gốc	57
Biểu đồ 3.3. Số phụ nữ được nghiên cứu tình trạng mang gen	64
Biểu đồ 3.4. Tỷ lệ phát hiện người mang gen bằng phân tích phả hệ	66
Biểu đồ 3.5. Tỷ lệ dị hợp tử với BclI của người mẹ mang gen.....	70
Biểu đồ 3.6. Biểu đồ đường cong ROC của tỉ số VIII/vWF:Ag	78
Biểu đồ 3.7. Tỷ lệ bệnh nhân có biểu hiện chảy máu bất thường.....	92
Biểu đồ 3.8. Triệu chứng chảy máu của các bệnh nhân mới.....	92
Biểu đồ 3.9. Biến chứng do chảy máu ở các bệnh nhân mới	93
Biểu đồ 3.10. Phân bố nồng độ yếu tố VIII ở các bệnh nhân hemophilia mức độ nặng	95
Biểu đồ 3.11. Phân bố nồng độ yếu tố VIII ở các bệnh nhân hemophilia mức độ trung bình.....	95
Biểu đồ 3.12. Phân bố nồng độ yếu tố VIII ở các bệnh nhân hemophilia mức độ nhẹ	95
Biểu đồ 3.13. Tỷ lệ xuất huyết của người mang gen	98
Biểu đồ 3.14. Biểu hiện xuất huyết của người mang gen bệnh.....	98

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

- ADN: Axit deroxyribonucleic
- APTT (Activater Partial Thromboplastin Time): Thời gian thromboplastin từng phần hoạt hóa
- AUC (area under the curve): Diện tích dưới đường biểu diễn
- HBV (Hematitis B virus): Vi rút viêm gan B
- HCV (hepatitis C virus): Vi rút viêm gan C
- HIV (human immunodeficiency virus): Vi rút suy giảm miễn dịch
- NST: Nhiễm sắc thể
- PCR (Polymerase Chain Reaction): Phản ứng chuỗi trùng hợp
- PT (Prothrombin time): Thời gian prothrombin
- RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphis): Đa hình chiều dài đoạn cắt giới hạn
- ROC (Receiver Operating Characteristic hay Receiver Operating Curve): Đường cong đặc trưng hoạt động của bộ thu nhận
- TT (Thrombin Time): Thời gian thrombin
- WFH (World Federation of Hemophilia): Liên đoàn Hemophilia Thế giới
- vWF (von Willerbrand factor) : yếu tố von Willerbrand

ĐẶT VẤN ĐỀ

Hemophilia là bệnh ưa chảy máu di truyền do tổn thương gen tổng hợp yếu tố VIII (đối với hemophilia A) hoặc yếu tố IX (đối với hemophilia B). Gen tổng hợp yếu tố VIII/IX nằm trên nhiễm sắc thể X và không có alen tương ứng trên nhiễm sắc thể Y. Bệnh di truyền lặn do đó gặp chủ yếu ở nam giới, còn phụ nữ là người mang gen.

Đặc điểm nổi bật của bệnh là chảy máu khó cầm ở khắp các vị trí trên cơ thể, nhưng hay gặp nhất là ở khớp và cơ. Nếu được chẩn đoán sớm và điều trị đầy đủ, người bệnh hemophilia hoàn toàn có thể có được cuộc sống bình thường, ngược lại, nếu được chẩn đoán muộn họ sẽ bị các biến chứng do chảy máu tái phát nhiều lần gây ra, trở thành người tàn tật, thậm chí chết sớm. Đối với người phụ nữ mang gen bệnh, có khoảng 50% trong số này có nồng độ yếu tố VIII/IX thấp, có nguy cơ bị chảy máu khó cầm sau chấn thương, phẫu thuật hoặc sinh đẻ và đặc biệt quan trọng là có thể truyền gen bệnh cho thế hệ sau. Chính vì vậy việc phát hiện và quản lý bệnh nhân và người mang gen trong gia đình bệnh nhân hemophilia hết sức có ý nghĩa trong phòng bệnh và chữa bệnh.

Theo ước tính của Liên đoàn Hemophilia Thế giới (World Federation of Hemophilia - WFH), toàn thế giới có khoảng 400.000 người mắc hemophilia, trong đó còn tới 75% chưa được chẩn đoán và điều trị đầy đủ [1]. Ước tính tại Việt Nam có khoảng 6000 người bị hemophilia [2]. Theo tác giả Alison Street, cứ ứng với một bệnh nhân hemophilia có khoảng 5 người phụ nữ mang gen trong gia đình [3], vì vậy với khoảng 6000 người bệnh, nước ta có khoảng 30.000 người mang gen hemophilia.

Mặc dù trong thời gian qua, công tác chăm sóc hemophilia tại Việt Nam đã có nhiều tiến bộ, số lượng bệnh nhân được chẩn đoán và quản lý đã tăng

lên đáng kể, tuy nhiên mới chỉ đạt khoảng 40% [4], còn đa số người mang gen chưa được chẩn đoán và quản lí.

Bệnh hemophilia kéo dài suốt đời, chi phí điều trị cao và liên quan đến nhiều chuyên khoa, do vậy người bệnh hemophilia rất cần được phát hiện sớm và quản lí tốt để có thể kéo dài tuổi thọ, giảm tỉ lệ tàn tật và có được cuộc sống như người bình thường với chất lượng tốt [5]. Do là bệnh lí di truyền nên trong một gia đình bệnh nhân có thể có nhiều người bị bệnh và nhiều người mang gen bệnh, vì vậy, căn cứ vào phả hệ của người bệnh đã được chẩn đoán có thể phát hiện ra các trường hợp bệnh nhân mới và người mang gen giúp cho người bệnh và người mang gen hemophilia được chẩn đoán sớm và quản lí kịp thời. Chính vì vậy, đề tài: “***Nghiên cứu phát hiện bệnh nhân và người mang gen bệnh hemophilia A dựa trên phân tích phả hệ***” được thực hiện với hai mục tiêu:

1. *Phát hiện các trường hợp hemophilia A và người mang gen bệnh trong gia đình các bệnh nhân hemophilia A dựa vào phân tích phả hệ.*
2. *Phân tích một số đặc điểm xuất huyết và xét nghiệm đông máu ở bệnh nhân hemophilia A và người mang gen bệnh mới được phát hiện.*

Chương 1

TỔNG QUAN

1.1. Bệnh hemophilia

1.1.1. Định nghĩa

Hemophilia là một bệnh rối loạn đông máu di truyền do thiếu hụt hoặc bất thường chức năng của các yếu tố đông máu trong huyết tương: thiếu hụt yếu tố VIII gây bệnh hemophilia A; thiếu hụt yếu tố IX gây bệnh hemophilia B.

1.1.2. Đặc điểm di truyền

Hemophilia là bệnh di truyền liên quan đến nhiễm sắc thể giới tính X. Qua nghiên cứu người ta thấy gen sản xuất yếu tố VIII nằm tại vị trí 28 trên cánh dài nhiễm sắc thể X và gen sản xuất yếu tố IX nằm ở vị trí giữa 27.1 và 27.2 trên cánh dài nhiễm sắc thể X, di truyền lặn vì vậy đa số người bị bệnh là nam giới, còn phụ nữ là người mang gen bệnh. Theo Big và Macfarlane, có khoảng 30% các trường hợp bị bệnh nhưng không có tiền sử gia đình, nghĩa là trong gia đình chỉ có một cá thể duy nhất bị hemophilia và trường hợp này được gọi là đơn phát [6]. Một trường hợp đơn phát có thể là kết quả của sự truyền gen hemophilia từ các phụ nữ không có triệu chứng qua các đời mà chưa được phát hiện; hoặc từ một đột biến mới ở người mẹ và người mẹ là người mang gen; hoặc là một đột biến mới từ chính bệnh nhân hemophilia.

1.1.3. Chẩn đoán

1.1.3.1. Chẩn đoán xác định

a. Lâm sàng

- Bệnh nhân thường là nam giới.
- Bệnh nhân dễ bị bầm tím từ khi còn nhỏ; chảy máu lâu cầm, tái phát nhiều lần ở nhiều vị trí: chân răng, mũi, vết thương, đái máu, đi ngoài ra máu, đặc biệt hay bị ở khớp và cơ, có tính chất lặp lại ở một cơ, một khớp.
- Chảy máu kéo dài bất thường sau chấn thương hoặc phẫu thuật.

- Bệnh nhân thường có biến dạng khớp, teo cơ do chảy máu nhiều lần ở khớp.

- Tiền sử gia đình: có người nam giới liên quan họ mẹ bị chảy máu lâu cầm.

b. Xét nghiệm

- APTT kéo dài;

- Định lượng yếu tố VIII: giảm dưới 40% (Hemophilia A).

- Định lượng yếu tố IX: giảm dưới 40% (Hemophilia B).

- Các xét nghiệm: số lượng tiểu cầu, PT, TT, fibrinogen, định lượng yếu tố von Willebrand trong giới hạn bình thường.

1.1.3.2. Chẩn đoán mức độ

Căn cứ vào nồng độ yếu tố VIII/IX cơ sở của bệnh nhân, người ta chia thành 3 mức độ:

- Mức độ nặng (nồng độ yếu tố VIII/IX < 1%): Bệnh nhân thường có xuất huyết tự nhiên, không liên quan đến chấn thương và thường được phát hiện sớm khi trẻ tập đi.

- Mức độ trung bình (nồng độ yếu tố VIII/IX 1 - 5%): Bệnh nhân thường bị chảy máu một cách tự nhiên hoặc sau chấn thương nhẹ, biểu hiện bệnh cũng xuất hiện muộn hơn.

- Mức độ nhẹ (nồng độ yếu tố VIII/IX 5 - 40%): Chảy máu thường chỉ xuất hiện sau chấn thương nặng hoặc sau phẫu thuật [7],[8].

1.2. Cơ sở di truyền yếu tố VIII

1.2.1. Đặc điểm sinh học yếu tố VIII

Yếu tố VIII là một heterodimer bao gồm một chuỗi nhẹ có trọng lượng phân tử 80.000 dalton và một chuỗi nặng trọng lượng phân tử từ 90.000 đến 200.000 dalton, được nối với nhau bằng cầu nối kim loại (đồng). Trình tự các acid amin tạo ra cấu trúc gồm 6 vùng sắp xếp theo thứ tự: A1: A2: B: A3: C1: C2 [9],[10],[11].

Yếu tố VIII được tổng hợp chủ yếu ở gan, một lượng rất nhỏ được tổng hợp ở thận, rau thai, tụy, cơ, hạch. Bình thường, nồng độ yếu tố VIII là 50 - 200%, thời gian bán hủy từ 8 - 12 giờ. Đầu tiên, yếu tố VIII được tổng hợp như một chuỗi đơn gồm 2351 axit amin ở lưới nội bào, sau đó nó được chuyển vào thể golgi và ở đây xảy ra một số phản ứng để hình thành phân tử dạng heterodimer như đã mô tả ở trên. Ngay sau khi được tổng hợp, yếu tố VIII gắn với yếu tố von Willebrand (vWF) và được ổn định bởi vWF bằng nhiều cơ chế khác nhau: vWF bảo vệ yếu tố VIII khỏi sự hoạt hoá bởi yếu tố Xa, khỏi sự bất hoạt bởi protein C hoạt hoá. Yếu tố von Willebrand (vWF) cũng ngăn cản yếu tố VIII trong việc gắn với phospholipid và tiểu cầu hoạt hoá. Cơ sở của những chức năng này là vWF có thể mang yếu tố VIII đến vị trí gắn của các tiểu cầu hoạt hoá tại nơi có thành mạch bị tổn thương [10],[12].

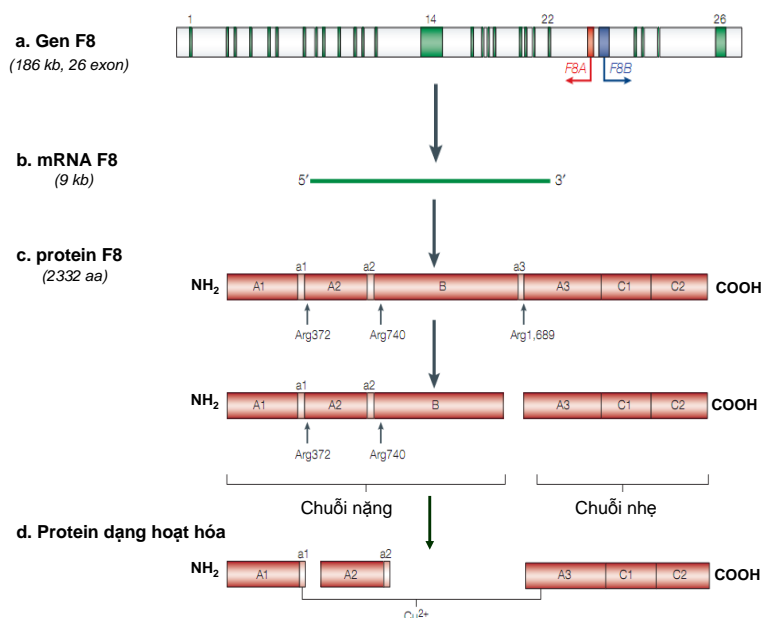
Yếu tố VIII được lưu thông dưới dạng tiền yếu tố không hoạt động và được hoạt hóa nhờ quá trình xúc tác phân giải bởi thrombin hoặc yếu tố Xa bằng cách cắt yếu tố VIII ở vị trí Arg 372 (chỗ nối A1 - A2), Arg 740 (chỗ nối A2 - B) và Arg 1689 (chỗ nối B - A3) (hình 1.1). Khi vùng A2 tương tác với phức hợp A1/A3 - C1 - C2 thì yếu tố VIII thực sự được hoạt hoá [12],[13]. Yếu tố VIIIa và yếu tố IXa liên kết trên bề mặt tiểu cầu hoạt hoá để tạo thành phức hợp hoạt hoá yếu tố X chức năng ("Xase"). Với sự có mặt của yếu tố VIIIa, tốc độ hoạt hoá yếu tố X bởi yếu tố IXa tăng lên nhiều lần. Hemophilia A và B giống nhau về biểu hiện lâm sàng là bởi cả yếu tố VIIIa và IXa đều cần cho cấu thành phức hợp Xase. Ở bệnh nhân hemophilia, sự tạo thành cục đông bị chậm lại bởi thrombin bị giảm sản xuất một cách đáng kể, cục máu đông kém bền vững và dễ bị tan [9],[12],[13].

1.2.2. Vị trí và cấu trúc của gen mã hóa yếu tố VIII

Gen quy định tổng hợp yếu tố VIII nằm ở vị trí Xq28 trên NST giới tính X.

Cấu trúc gen *F8* và cơ chế bệnh học phân tử đã được nghiên cứu đầy đủ

và rõ ràng. Gen *F8* là một trong những gen lớn nhất cơ thể, có kích thước 186kb gồm 26 exon, trong đó 24 exon có kích thước từ 62 bp đến 262 bp và 2 exon lớn nhất là exon 14 (3106 bp) và exon 26 (1958 bp) (hình 1.1).



Hình 1.1: Cấu trúc gen và protein yếu tố VIII

(Nguồn: Graw J, Brackmann HH, Oldenburg J et al(2005)[14])

a) Gen *F8* bao gồm 25 intron và 26 exon trong đó exon 26 mã hóa cho vùng 3'UTR; vùng intron 22 chứa 2 gen *F8A* và *F8B*. b) Phân tử mRNA được phiên mã có kích thước 9 kb. c) và d) Các bước hoàn thiện phân tử protein *F8* thành một yếu tố VIII hoàn chỉnh được hoạt hóa.

Gen *F8* mã hóa protein yếu tố VIII gồm hai chuỗi nặng và nhẹ nối với nhau bởi ion kim loại (đồng). Cấu trúc của phức hợp này được giữ ổn định nhờ sự tương tác giữa các liên kết ưa nước và kỵ nước với yếu tố von Willebrand và Ca²⁺ [9],[10],[13]. Chuỗi nặng có đầu N tận, gồm các vùng A1 - A2 - B, chuỗi nhẹ có đầu C tận, gồm các vùng A3 - C1 - C2. Vùng B được mã hóa bởi một exon lớn và không có sự tương đồng với bất kỳ gen nào đã biết. Khi thủy phân hoàn toàn vùng B tạo thành asparagin, serin và threonin. Vùng B không cần cho chức năng của yếu tố VIII và sau quá trình dịch mã, vùng B bị cắt khỏi chuỗi nặng của yếu tố VIII [9],[10],[12],[13].

1.2.3. Các dạng đột biến gen yếu tố VIII gây bệnh hemophilia A

Khi gen *F8* bị đột biến, tế bào giảm hoặc mất khả năng tổng hợp yếu tố VIII gây nên bệnh hemophilia A. Có nhiều dạng đột biến gen *F8* gây bệnh hemophilia A: Đột biến điểm (thay thế nucleotid gây đột biến sai nghĩa hoặc vô nghĩa) chiếm tỷ lệ cao nhất (47,5%), đột biến đảo đoạn gồm đảo đoạn intron 1 và intron 22 (36,7%), đột biến mất đoạn gen chiếm khoảng 10 - 15%. Tùy thuộc vào kiểu gen và vị trí đột biến trên gen *F8* mà gây ra bệnh với mức độ nặng nhẹ khác nhau [9],[10],[15].

1.2.3.1. Đột biến điểm

Đột biến điểm gen *F8* khi có sự thay đổi nucleotid trên gen. Nghiên cứu của tác giả Shima và cộng sự (năm 1989) chỉ ra rằng đột biến thay thế arginin thành histidin tại vị trí 372 gây biến đổi vị trí cắt của thrombin và làm quá trình hoạt hóa yếu tố VIII bị rối loạn, hoạt tính yếu tố VIII giảm mạnh xuống còn 3 - 5% [15]. Năm 2000, Jacquemin và cộng sự đã chứng minh đột biến thay thế serin thành tyrosin tại vị trí 2119 (vùng C₂) làm giảm đột ngột khả năng tương tác giữa yếu tố VIII và vWF, dạng đột biến này thường gặp ở mức độ nhẹ và trung bình [16]. Điều đáng chú ý là các đột biến gây hemophilia A nằm rải rác trên 26 exon mà không tập trung vào một vùng hotspot. Tác giả Goodeve (năm 2003) và Jochen Graw (năm 2005) chỉ ra phần lớn các đột biến điểm đều có xu hướng xuất hiện ở đoạn trình tự CpG gây thay thế acid amin arginin thành một acid amin khác hoặc codon kết thúc, ví dụ: tại vị trí Arg 527, Arg531, Arg593, Arg 1689, Arg1781, Arg1941, Arg2209, Arg2304... [13],[15],[17].

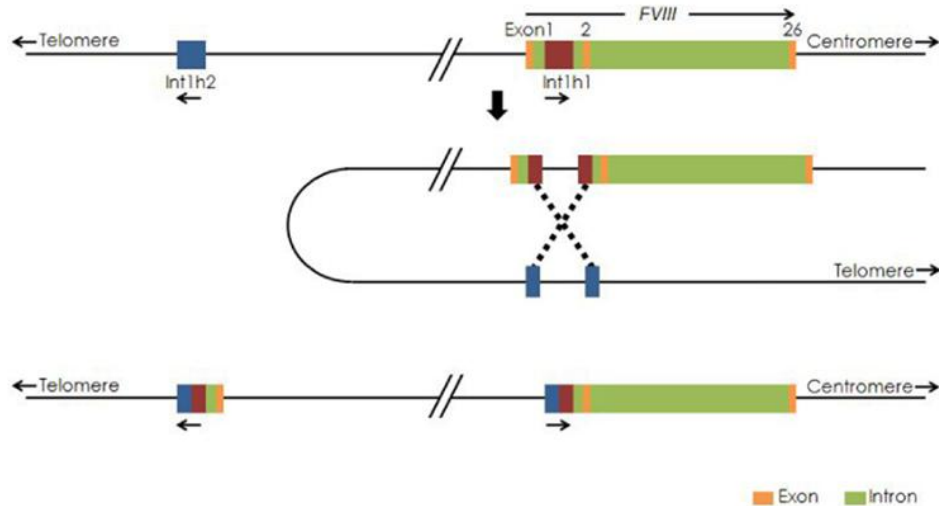
Phần lớn các bệnh nhân mang đột biến ở arginin đều ở mức độ nặng [14],[15].

1.2.3.2. Đột biến đảo đoạn

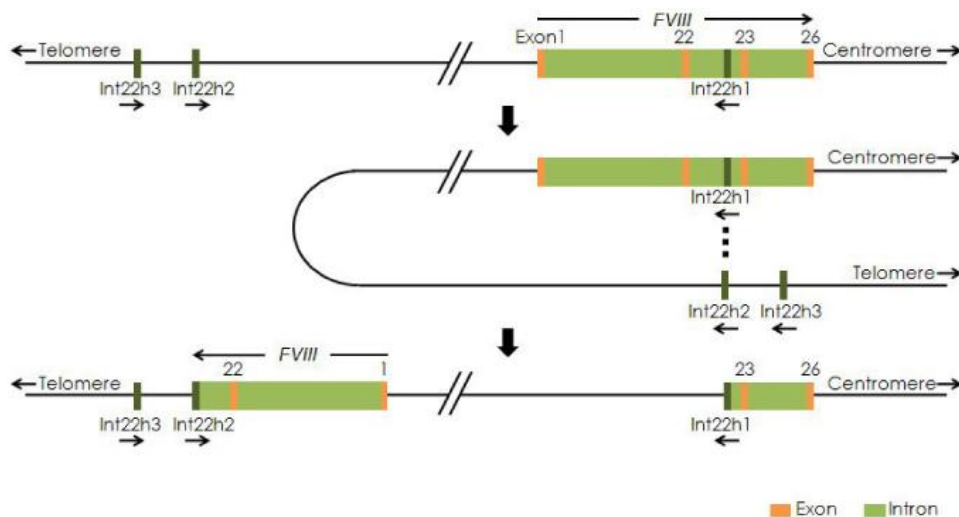
Mặc dù không có vai trò trong việc mã hóa hay tham gia vào quá trình hoạt hóa yếu tố VIII nhưng các vùng intron của gen *F8* lại là tác nhân chính

gây ra các dạng đột biến đảo đoạn ở các bệnh nhân hemophilia A mức độ nặng.

b1)



b2)



Hình 1.2. Cơ chế gây đột biến đảo đoạn intron 1 và intron 22 của gen F8 (b1, b2)

(Nguồn: Ye Jee Shim, Kun Soo Lee (2010) [18])

b1) Do đoạn trình tự *int22h1* của intron 22 có độ tương đồng rất cao với hai vùng *int22h2* và *int22h3* nằm ngoài gen F8 nên hiện tượng tái tổ hợp tương đồng diễn ra trên nhiễm sắc thể X tại vị trí gen F8, phân cắt gen F8 thành 2 mảnh; đột biến đảo đoạn intron 22 chiếm tới 50% các bệnh nhân mức độ nặng.

b2) Cơ chế gây đột biến đảo đoạn intron 1 diễn ra tương tự như đột biến đảo đoạn intron 22, dạng đột biến này phát hiện ở 5% số bệnh nhân mức độ nặng.

Dạng đột biến đảo đoạn phổ biến nhất là đảo đoạn intron 22, chiếm tới 50% các bệnh nhân mắc bệnh ở mức độ nặng. Cách gen *F8* một đoạn 500 kb về phía đầu mút, nhiễm sắc thể X tồn tại hai vùng int22h2 và int22h3 có trình tự tương đồng đến 99,9% với một đoạn thuộc intron 22 gen *F8* (vùng int22h1). Quá trình tái tổ hợp tương đồng giữa vùng int22h1 và một trong hai vùng int22h2 và int22h3 chia cắt gen *F8* thành 2 đoạn (exon 1 - 22 và exon 23 - 26) cách nhau 400kb gây bất hoạt hoàn toàn gen mã hóa yếu tố VIII. Hiện tượng tái tổ hợp tương tự cũng diễn ra giữa intron 1 (int1h1) và vùng trình tự tương đồng int1h2 cách gen *F8* một đoạn 140kb về phía đầu mút nhiễm sắc thể gây nên dạng đột biến đảo đoạn intron 1 xuất hiện ở 5% các bệnh nhân mức độ nặng [18],[19],[20],[21].

1.2.3.3. Đột biến mất đoạn của gen yếu tố VIII

Đột biến mất đoạn lớn chiếm 2 - 5% bệnh nhân hemophilia A mức độ nặng. Có thể mất 1 exon hoặc mất toàn bộ gen. Cơ chế phân tử của dạng đột biến này đã được kết luận là do quá trình tái tổ hợp dẫn đến hiện tượng lặp lại alu [18]. Đột biến chèn đoạn lớn và hiện tượng alu làm đứt gãy gen *F8* và gây bệnh hemophilia A mức độ nặng. Mất đoạn và chèn đoạn nhỏ cũng thường gặp trong hemophilia A mức độ nặng, trong đó thay đổi từ 1 - 55 nucleotid. Phổ biến nhất là mất hoặc chèn nucleotid adenin vào exon 14, thường xảy ra trong vùng từ c.3637 đến c.4379 [18].

1.3. Các phương pháp chẩn đoán người mang gen

Người phụ nữ mang gen bệnh ngoài việc có thể sinh ra con cái bị bệnh hoặc mang gen còn có nguy cơ chảy máu bất thường do có đến 50% người mang gen có nồng độ yếu tố đông máu thấp. Chẩn đoán tình trạng mang gen vừa giúp cho họ có thể chủ động trong quá trình sinh đẻ, kế hoạch hóa gia đình để có thể sinh ra thế hệ sau khỏe mạnh, vừa giúp phòng tránh các biến chứng do chảy máu lâu cầm gây ra.

1.3.1. Phân tích phả hệ

1.3.1.1. Phả hệ là gì

Phả hệ là đại diện di truyền của một gia đình trong đó sơ đồ hóa sự di truyền của một tính trạng hoặc một bệnh qua các thế hệ. Phả hệ thể hiện mối quan hệ giữa các thành viên trong gia đình [22],[23],[24].

Để biết được và cá nhân nào bị bệnh, cá nhân nào mang gen bệnh, một phả hệ cần có thông tin ít nhất là 3 thế hệ. Để xây dựng được phả hệ cho một gia đình cần khai thác kỹ lưỡng về tiền sử bản thân và tiền sử gia đình của cá nhân bị bệnh. Việc khai thác thông tin nên bắt đầu tiến hành từ người bệnh, sau đó đến anh chị em, bố mẹ, các thế hệ trước như ông bà, cụ kị..., rồi đến thế hệ sau, càng nhiều càng tốt. Các thông tin thu thập bao gồm:


































- Thông tin chung như tên, năm sinh,
- Nguồn gốc gia đình, chủng tộc,
- Tình trạng sức khỏe,
- Tuổi lúc tử vong và nguyên nhân tử vong của các thành viên trong gia đình.
- Kết quả thai kì của bệnh nhân và những người có quan hệ huyết thống

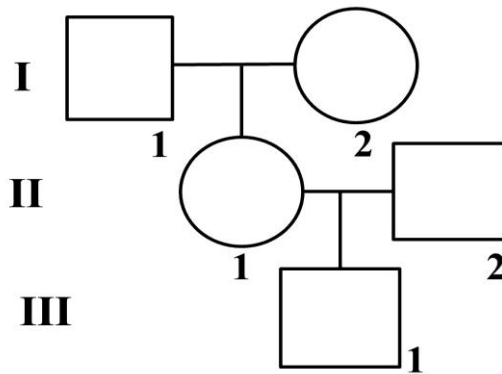
Theo thời gian, các thông tin của bệnh nhân và gia đình sẽ thay đổi nên cần yêu cầu người bệnh cập nhật thông tin về gia đình một cách định kì [2],[25],[26],.

1.3.1.2. Các biểu tượng quy ước trong vẽ phả hệ

Trong phả hệ, thông tin và mối liên hệ của thành viên trong gia đình được thể hiện dưới dạng sơ đồ và biểu tượng đã được chuẩn hóa, dễ nhận diện và thực hiện (vẽ) nhanh hơn so với viết thông tin [24],[27],[28]. Dưới đây là một số biểu tượng quy ước trong vẽ phả hệ của hội Tư vấn di truyền quốc gia (Mỹ) năm 2008 [28].

Bảng 1.1: Một số biểu tượng quy ước trong vẽ phả hệ [28]

Nội dung	Nam	Nữ	Không rõ giới tính	Ghi chú
Cá thể				Mô tả giới tính của kiểu hình
Cá thể bị bệnh				Có thể thay đổi cách đánh dấu
				Nếu bị ≥ 2 bệnh thì sử dụng 2 cách đánh dấu khác nhau để phân biệt
Nhiều người, biết số lượng				Số lượng anh chị em viết ở phía trong biểu tượng, tuy nhiên cá thể bị bệnh nên đứng riêng với nhóm này
Nhiều người, không biết số lượng				“n” được viết ở trong biểu tượng thay cho dấu “?”
Người đã chết				Mô tả nguyên nhân chết nếu biết
Có thai				Ghi chú bên dưới tuổi thai, kết quả xét nghiệm nhiễm sắc thể
Thành viên bị bệnh đầu tiên được nghiên cứu/tư vấn				
Thành viên đầu tiên được nghiên cứu/tư vấn				
Sảy thai tự nhiên				
Đình chỉ thai nghén				
Người chắc chắn mang gen				



Sơ đồ 1.1. Ký hiệu phả hệ

Chữ số La mã chỉ số đời, chữ số Ả rập chỉ số cá nhân của các đời.

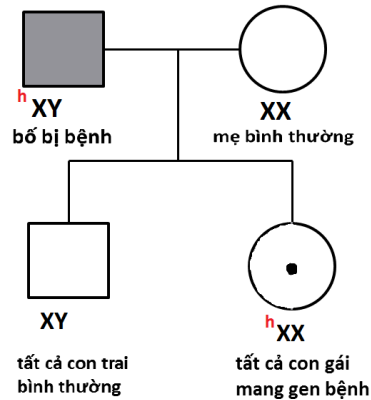
Ví dụ I:2 là bà ngoại của III:1.

1.3.1.3. Phân tích phả hệ

Phân tích phả hệ cho phép phát hiện được quy luật di truyền của một số bệnh. Bên cạnh đó, nếu bệnh lí di truyền mà gia đình đó mắc đã biết quy luật thì căn cứ vào phả hệ có thể xác định được kiểu gen, nguy cơ mắc bệnh, nguy cơ mang gen bệnh của các thành viên trong gia đình [25],[29].

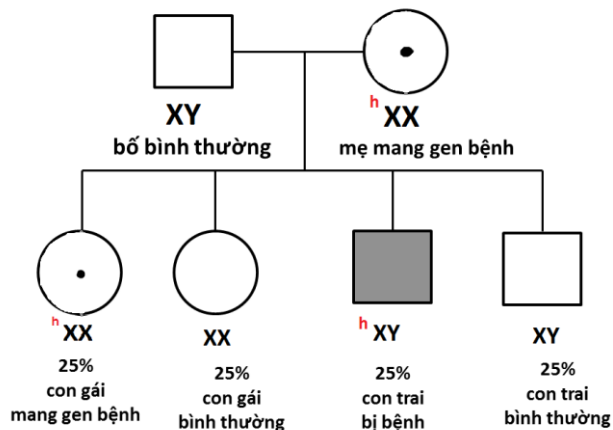
Hemophilia là ví dụ đặc trưng cho bệnh lí di truyền lặn, nhiễm sắc thể giới tính. Trong trường hợp này nam giới là người bệnh và nữ giới là người mang gen bệnh. Do gen quy định sản xuất yếu tố VIII/IX nằm trên nhiễm sắc thể X, di truyền lặn và không có alen tương ứng trên nhiễm sắc thể Y vì vậy căn cứ vào quy luật di truyền của Mendel, dựa vào phả hệ có thể xác định được nam giới có khả năng bị bệnh, nam giới bình thường, người phụ nữ chắc chắn mang gen và người phụ nữ có khả năng mang gen.

Nếu một người đàn ông bị bệnh lấy một người phụ nữ bình thường thì tất cả con gái của họ là người mang gen, còn con trai thì bình thường (sơ đồ 1.2).



Sơ đồ 1.2. Sơ đồ di truyền bệnh hemophilia 1

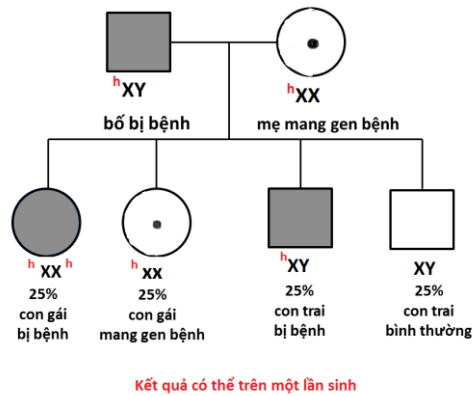
Nếu một người phụ nữ mang gen hemophilia lấy một người đàn ông bình thường thì xác suất cho mỗi lần sinh con của họ là: 25% con trai bình thường, 25% con trai bị bệnh, 25% con gái bình thường, 25% con gái mang gen bệnh (sơ đồ 1.3).



Kết quả có thể trên một lần sinh

Sơ đồ 1.3. Sơ đồ di truyền bệnh hemophilia 2

Nếu một người phụ nữ mang gen bệnh kết hôn với một người đàn ông bị bệnh thì xác suất cho mỗi lần sinh con của họ là: 25% con trai bị bệnh, 25% con trai bình thường, 25% con gái bị bệnh, 25% con gái mang gen bệnh (sơ đồ 1.4).



Sơ đồ 1.4. Sơ đồ di truyền bệnh hemophilia 3

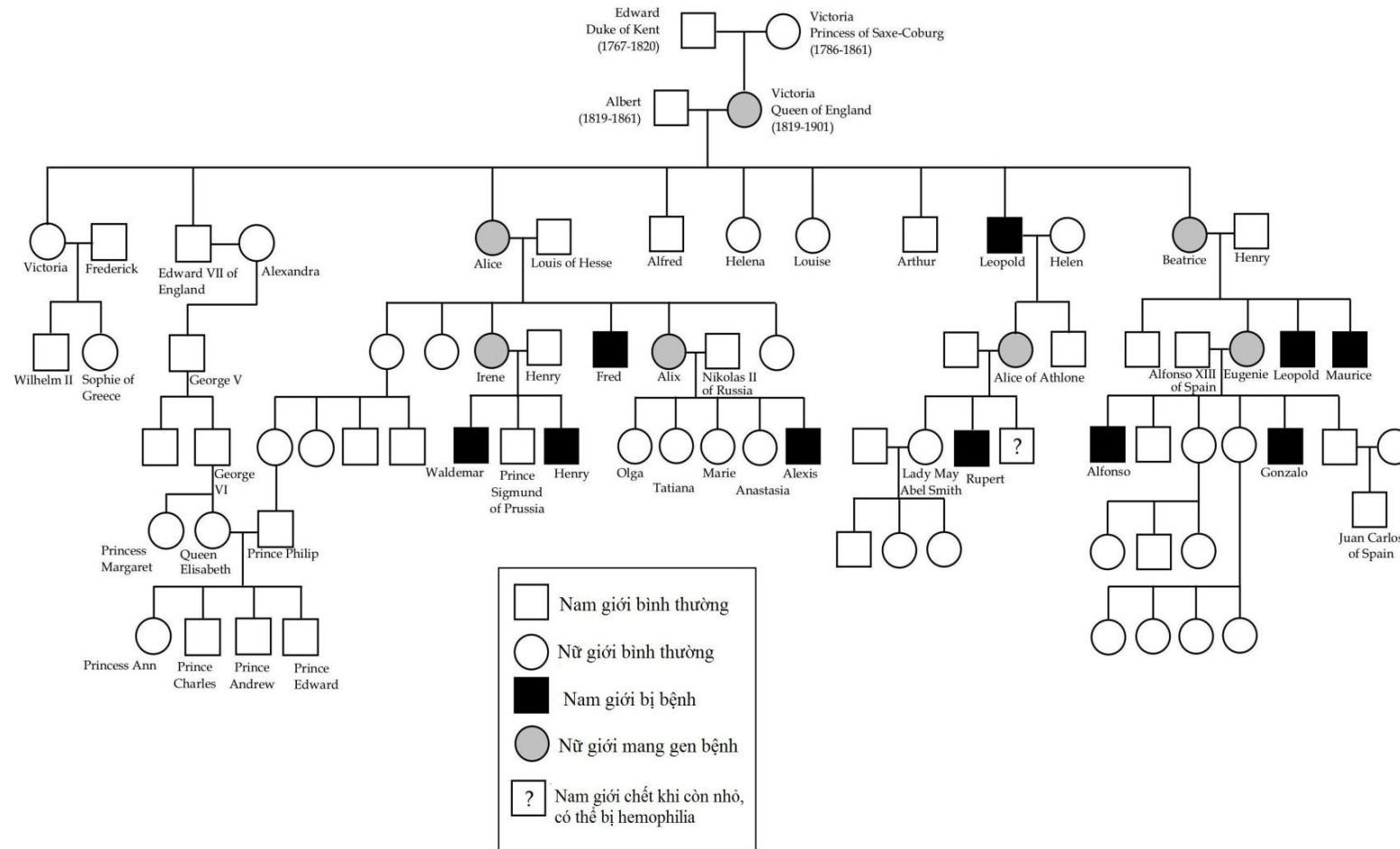
Người phụ nữ chắc chắn mang gen khi thỏa mãn 1 trong 4 điều kiện sau:

- Có ít nhất hai con trai bị bệnh.
- Là con của bệnh nhân hemophilia.
- Có 1 con trai bị bệnh và có ít nhất 1 người đàn ông trong họ mẹ bị bệnh.
- Có 1 con trai bị bệnh và trong gia đình họ mẹ có ít nhất 1 người được chẩn đoán là người mang gen.

Người phụ nữ có khả năng mang gen khi thỏa mãn 1 trong 3 điều kiện sau:

- Có 1 con trai bị bệnh và trong gia đình không có ai bị bệnh cũng như mang gen bệnh.
- Có ít nhất 1 người đàn ông trong họ mẹ bị bệnh và không có con trai bị bệnh.
- Là con của một người mang gen bệnh [9],[17],[30],[31].

Ví dụ điển hình là phả hệ của Nữ hoàng Anh Victoria. Căn cứ vào phả hệ này có thể nhận biết ai là người chắc chắn mang gen và ai có khả năng mang gen.



Hình 1.3. Phả hệ gia đình Nữ hoàng Anh Victoria [32]

Nữ hoàng Victoria sinh năm 1819 và lên ngôi trị vì Vương quốc Anh năm 1837. Năm 1840, bà kết hôn với anh họ là hoàng tử Albert, sinh ra 9 người con, 4 trai và 5 gái trong đó người con trai út là Leopold I bị hemophilia. Sau khi kết hôn, hai con gái của bà là Alice I và Beatrice cũng sinh ra con trai bị hemophilia (Frederick con của Alice I; Leopold II và Maurice con của Beatrice). Leopold I sau đó sinh được 1 con gái là công nương Alice II, người sau này có 1 con trai là Rupert cũng bị hemophilia.

Nữ hoàng Victoria khi mới chỉ sinh con trai là Leopold I bị bệnh thì được xác định là người có khả năng mang gen. Nhưng sau khi 1 trong 3 cháu trai của bà là Frederick, Leopold II, Maurice được phát hiện bị hemophilia thì bà được xác định là người chắc chắn mang gen.

- Công nương Alice II là con gái của Leopold I (bệnh nhân), vì vậy là người mang gen. Công nương Alice II sau đó đã truyền gen bệnh cho con trai là Rupert.

- Alice I có 1 em trai Leopold I và con trai Frederick bị hemophilia nên bà là người mang gen.

- Beatrice có hai con trai là Leopold II và Maurice bị bệnh nên bà là người mang gen.

Tương tự chúng ta xác định được Irene, Alix, Eugenie là người mang gen [30], [33].

1.3.2. Phân tích yếu tố đông máu

Lyonization thường được gọi là bất hoạt nhiễm sắc thể X là quá trình mà 1 trong 2 bản sao của nhiễm sắc thể X của động vật có vú cái bị bất hoạt. Nhiễm sắc thể X không hoạt động được im lặng bằng cách đóng gói thành dị phiên mã không hoạt động. Ở động vật có vú, nam giới nhận một bản sao nhiễm sắc thể X từ mẹ, trong khi nữ giới nhận hai bản sao nhiễm sắc thể X từ bố và mẹ. Để ngăn chặn các tế bào nữ có nhiều gấp đôi các sản phẩm gen từ

nhiễm sắc thể X so với nam giới, một bản sao của nhiễm sắc thể X trong mỗi tế bào nữ được bất hoạt. Ở giai đoạn bào thai của động vật có vú, sự lựa chọn nhiễm sắc thể X bất hoạt là ngẫu nhiên, trong khi ở loài thú có túi, nhiễm sắc thể bị bất hoạt là nhiễm sắc thể có nguồn gốc từ bố. Sự bất hoạt này xảy ra ở nhiều giai đoạn khác nhau của các dòng tế bào khác nhau, vì vậy, đối với những trường hợp bệnh lí di truyền liên quan đến nhiễm sắc thể giới tính X, cá thể nữ mang gen bệnh sẽ có cả các tế bào mang kiểu hình bình thường và kiểu hình đột biến. Hiện tượng này được gọi là thể khảm Mary Lyon, là kết quả được Mary Lyon khám phá sau khi quan sát tính trạng màu lông ở chuột dị hợp tử. Do đó, một cá thể nữ mang gen di truyền lặn cũng có thể biểu hiện bệnh, mặc dù chỉ cần 50% tế bào biểu hiện gen bình thường thì chức năng nó thể hiện cũng đã có thể bình thường [22],[33].

Từ những năm 1970, người ta đã phát hiện có một tỉ lệ người mang gen hemophilia A có nồng độ yếu tố VIII thấp hơn so với người bình thường, điều này được cho là hậu quả của việc bất hoạt nhiễm sắc thể X như đã trình bày ở trên. Tuy nhiên, do yếu tố VIII của người bình thường cũng dao động nhiều, kèm theo có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến nồng độ yếu tố VIII như nhóm máu ABO (người có nhóm máu O thường có nồng độ yếu tố VIII thấp hơn so với nhóm máu khác O), stress, tình trạng có thai, sử dụng hooc-môn... nên không thể suy ngay ra tình trạng mang gen nếu có yếu tố đông máu thấp [31]. Bên cạnh đó các tác giả cũng nhận thấy hemophilia A ảnh hưởng đến việc sản xuất yếu tố VIII nhưng không ảnh hưởng đến protein mang là yếu tố von Willebrand vì vậy nồng độ yếu tố von Willebrand ở bệnh nhân hemophilia A và người mang gen vẫn bình thường, đa số người mang gen sản xuất nhiều yếu tố von Willebrand hơn là yếu tố VIII và vì vậy tỉ số hoạt tính yếu tố VIII/yếu tố von Willebrand (VIII/vWF:Ag) ở nhóm phụ nữ mang gen thấp hơn ở nhóm phụ nữ bình thường. Tỉ số này theo nghiên cứu của các tác giả

dao động từ 0,74 - 2,2 ở nhóm người bình thường và 0,18 - 0,9 ở nhóm người chắc chắn mang gen [34],[35]. Nếu được thực hiện trên cùng một mẫu máu, trong một phòng xét nghiệm chuẩn hóa thì tỉ số VIII/vWF:Ag mà ở đó sự chồng chéo giữa hai nhóm phụ nữ bình thường và nhóm phụ nữ mang gen là thấp nhất có thể dùng để xác định tình trạng mang gen hemophilia A cho người phụ nữ có liên quan [33],[34],[35],[36],[37],[38]. Tuy nhiên hạn chế của phương pháp là chỉ có thể chỉ ra người phụ nữ mang gen nếu có tỉ số thấp mà không khẳng định được người phụ nữ không mang gen khi có tỉ số cao. Hơn nữa, không có một hằng số chung cho tất cả các phòng xét nghiệm, mỗi nơi phải xây dựng cho mình một ngưỡng riêng [9],[31],[33],[36],[37],[38]. Ví dụ ngưỡng xác định người mang gen ở Ấn Độ là 0,7 [39], thì ở Philippin là 0,6 [40], Thái Lan là 0,82 [41]. Hiện nay, phương pháp này vẫn được áp dụng tại các cơ sở chưa triển khai được xét nghiệm di truyền hoặc các trường hợp không phát hiện được tổn thương di truyền của cá thể bị hemophilia trong gia đình [31],[33].

1.3.3. Phân tích tổn thương di truyền

Sau khi gen yếu tố VIII và yếu tố IX được nhân lên trong phòng thí nghiệm thì người ta có thể xác định chính xác tình trạng mang gen cũng như chẩn đoán trước sinh thai nhi hemophilia A và B bằng cách phân tích ADN.

1.3.3.1. Phân tích trực tiếp đột biến

Phân tích gen của bệnh nhân hemophilia A cho thấy có tới hơn 2179 đột biến trên gen yếu tố VIII đã được phát hiện [42]. Để chẩn đoán một người phụ nữ có phải là người mang gen hay không, cách tốt nhất là xác định xem ADN của cô ấy có cùng đột biến giống như người bị hemophilia trong gia đình hay không. Đầu tiên người ta sẽ lấy máu của người bệnh hemophilia và người nghi ngờ mang gen để tách chiết ADN từ tế bào bạch cầu của họ. Tiếp theo, phân tích để tìm đột biến của người bệnh là đột biến gì, sau đó xác định người

phụ nữ có mang đột biến đậy hay không. Có hai kĩ thuật chính để phát hiện đột biến là kĩ thuật PCR và giải trình tự gen. Với các kĩ thuật này, phân tích trực tiếp có thể phát hiện được 97% các trường hợp hemophilia A [31]. Tuy nhiên, do độ lớn của gen cũng như sự đa dạng về đột biến nên đây là một phương pháp yêu cầu kĩ thuật và tay nghề cao, tốn nhiều thời gian và chi phí đắt đỏ. Đối với các trường hợp hemophilia A mức độ nặng thì đột biến nên được sàng lọc đầu tiên là đảo đoạn intron 22 sau đó đến đảo đoạn intron 1; lí do bởi các đột biến này được tìm thấy ở 45 - 50% bệnh nhân hemophilia A mức độ nặng đối với đảo đoạn intron 22 và 1 - 5% đối với đảo đoạn intron 1 [8],[43]. Để phát hiện các đột biến này có thể sử dụng phương pháp khuếch đại chuỗi dài (long PCR) hoặc Southern blot. Bên cạnh đó, người ta có thể giải mã trực tiếp trình tự ADN. Xu hướng hiện nay, các labo thường sàng lọc các đột biến trên gen yếu tố VIII và IX đã được phát hiện trước đó. Đối với các đột biến chưa biết thì tùy thuộc vào trang thiết bị và trình độ nhân lực, các labo có thể chọn lựa những phương pháp thích hợp như sắc kí lỏng hiệu năng cao áp biến tính (denaturing high performance liquid chromatography-dHPLC) và điện di xác định độ nhạy cao (conformation sensitive gel electrophoresis- CSGE)...[44].

Như trên đã trình bày, để có thể chẩn đoán được tình trạng mang gen của người phụ nữ thì cần có mẫu máu của thành viên bị bệnh hemophilia trong gia đình. Tuy nhiên, trường hợp không có mẫu máu của người bệnh thì có thể sử dụng mẫu máu của người chắc chắn mang gen (trong gia đình). Một số tác giả khuyên nên phân tích tổn thương di truyền và lưu trữ kết quả, hoặc lưu trữ ADN cho tất cả các gia đình hemophilia, đặc biệt những gia đình chỉ có một người duy nhất bị hemophilia phòng khi nếu người đó tử vong sẽ không làm mất đi cơ hội được chẩn đoán tình trạng mang gen cho các thành viên khác trong gia đình [33].

1.3.3.2. Phân tích liên kết

Phân tích liên kết là phương thức theo dõi sự di truyền của nhiễm sắc thể X bị đột biến trong gia đình. Phương thức này dựa trên các đa hình liên kết trên nhiễm sắc thể X. Đa hình là những thay đổi xảy ra trên trình tự nucleotid của gen dẫn đến tính đa dạng, tạo ra sự khác biệt giữa người này với người kia mà không ảnh hưởng đến chức năng của gen đó nhưng có thể sử dụng để chẩn đoán. Trong hemophilia, đa hình phân tích phải nằm trên nhiễm sắc thể X, di truyền cùng gen yếu tố VIII và phải có giá trị thông tin. Giá trị thông tin đa hình là tần suất xuất hiện, tỷ lệ dị hợp tử và tương tác liên kết với đa hình khác. Giá trị này khác nhau giữa các chủng tộc người. Người dị hợp tử về đa hình nào là người có 2 alen khác nhau về đa hình đó trên 2 nhiễm sắc thể X của mình, và được gọi là có thông tin. Tỷ lệ dị hợp tử của đa hình nào càng cao thì hiệu quả chẩn đoán của đa hình đấy càng tốt. Tỷ lệ dị hợp tử của các marker đa hình này rất thay đổi ở các tộc người khác nhau. Bên cạnh đó, có một số đa hình liên kết tương quan với nhau; nói cách khác là có một alen của đa hình này liên kết với một alen của đa hình khác vì vậy khi phối hợp 2 đa hình này với nhau sẽ ít làm tăng tỷ lệ có thông tin. Chính vì vậy để đảm bảo hiệu quả cho việc chẩn đoán, việc chọn lựa sử dụng đa hình nào cần căn cứ vào tỷ lệ dị hợp tử cũng như sự liên kết tương quan giữa các đa hình của quần thể người đó [45]. Hầu hết các đa hình có thể phân tích bằng kỹ thuật cắt enzym giới hạn. Enzym giới hạn cắt chuỗi ADN tại một vị trí đặc hiệu cho từng enzym. Nếu có các đa hình tự nhiên xảy ra, vị trí cắt đặc hiệu sẽ thay đổi do vậy độ dài của đoạn cắt cũng sẽ thay đổi theo giữa các cá thể khác nhau cũng như giữa 2 nhiễm sắc thể X của người phụ nữ được phân tích. Đây chính là căn cứ để xác định alen bị đột biến ở người phụ nữ mang gen [42], [46], [47].

Có 7 loại biallelic là các đa hình trong gen (intragenic) yếu tố VIII đã

được mô tả và sử dụng để xác định người mang gen cũng như chẩn đoán trước sinh hemophilia A: *BclI*, *HindIII*, *XbaI*, *BglII*, *MspI* (1), *MspI* (2), và *TaqI* trong đó *BclI* được sử dụng nhiều nhất trên thế giới. Hai đa hình ngoài gen mutiallelic là đoạn lặp 2 nucleotid (CA)_n ở intron 13 và (CA)_n(CT)_n ở intron 22 cũng được sử dụng có hiệu quả ở nhiều tộc người. Bên cạnh đó, có 2 đa hình ngoài gen nằm trên locus hemophilia cũng được sử dụng, đó là *BgIII/DX* và *TaqI/St14*. Tuy nhiên, do nguy cơ tái tổ hợp trong quá trình giảm nhiễm mà người ta ít sử dụng các môi ngoài gen. Sử dụng phương pháp khuếch đại chuỗi (PCR) người ta có thể phát hiện được các RFLPs trong vòng 1 - 2 ngày thay vì 10 – 14 ngày so với kỹ thuật RFLP qui ước [42],[45].

Để phân tích liên kết xác định người mang gen và chẩn đoán trước sinh cần có mẫu máu của cả người bệnh lẫn một số thành viên khác trong gia đình, điều này đôi khi gặp khó khăn do các thành viên sống xa về mặt địa lí hoặc có thành viên trong gia đình đã chết, hoặc không hợp tác... Hơn nữa, đối với các trường hợp đơn phát thì phương pháp này không thực hiện được.

Như vậy, để sử dụng phương pháp phân tích gián tiếp gen xác định người mang gen cần lưu ý các điểm sau:

- Người mẹ là mang gen phải dị hợp tử với đa hình được sử dụng.
- Nếu phối hợp các đa hình cần biết sự tương quan liên kết giữa chúng.
- Khoảng cách giữa đa hình và gen cần được biết vì nguy cơ tái tổ hợp liên quan trực tiếp đến khoảng cách giữa đa hình và đột biến.
- Tỷ lệ có thông tin phụ thuộc vào tỷ lệ dị hợp tử của đa hình của từng quần thể và cần xác định tỷ lệ này trước khi tiến hành phân tích ADN.

1.3.3.3. Hemophilia đơn phát

Hemophilia đơn phát là trường hợp hemophilia xuất hiện đầu tiên trong gia đình. Đột biến mới gây hemophilia xảy ra thường xuyên, đặc biệt ở các tế bào phân chia với tốc độ nhanh như tế bào đầu dòng của tinh trùng và tế bào

phôi trong khi đột biến ở trứng xảy ra với tần suất thấp hơn. Phần lớn người mẹ của bệnh nhân hemophilia đơn phát có đột biến soma, nghĩa là đột biến có trong tất cả các tế bào. Đa số đột biến của người phụ nữ có nguồn gốc từ tinh trùng của bố, một số có nguồn gốc từ mẹ. Một số đột biến xuất hiện trong 1 tế bào hoặc từ bố, hoặc từ mẹ khi họ tạo thành phôi và tế bào đột biến phát triển thành tuyến sinh dục hoặc 1 phần của tuyến sinh dục. Một vài người mẹ của hemophilia đơn phát có thể mang đột biến ở một số tế bào chứ không phải ở tất cả các tế bào, trường hợp này gọi là thể khảm. Trong trường hợp này, đột biến có thể vừa có ở tế bào trứng, vừa có ở trong bạch cầu (là tế bào thường dùng để phát hiện đột biến); hoặc chỉ có ở trứng mà không có trong bạch cầu. Chính vì vậy tất cả người mẹ của bệnh nhân hemophilia đơn phát cần được coi là người mang gen và nên tìm thêm đột biến ở trứng nếu không tìm thấy trong bạch cầu [33].

1.4. Chẩn đoán trước sinh

Chẩn đoán trước sinh là một phần quan trọng trong chăm sóc người mang gen và gia đình của họ. Trong mỗi lần sinh, người mang gen có nguy cơ truyền gen bệnh cho 50% con gái và 50% con trai. Việc quyết định làm chẩn đoán trước sinh và có đình chỉ thai nghén hay không rất phức tạp và phụ thuộc vào nhiều yếu tố. Người thầy thuốc cần trao đổi với người mang gen và gia đình họ về tất cả những khả năng có thể xảy ra và các biện pháp có thể áp dụng để chẩn đoán trước sinh, tốt nhất là vào thời điểm trước khi có thai.

Các biện pháp chẩn đoán trước sinh áp dụng cho hemophilia:

1.4.1. Sinh thiết gai rau

Là phương pháp được áp dụng nhiều nhất trong chẩn đoán trước sinh hemophilia. Thủ thuật được tiến hành vào tuần thứ 9 - 14 của thai kỳ dưới sự hướng dẫn của siêu âm để lấy mẫu gai rau làm phân tích di truyền. Mẫu ADN thai nhi chiết tách từ tổ chức gai rau sẽ được phân tích giới tính và phân tích

tổn thương di truyền trực tiếp hoặc các đa hình liên kết. Tỷ lệ hỏng thai liên quan đến thủ thuật này là 1% [8],[48]. Ưu điểm của sinh thiết gai rau là nếu thai nhi bị bệnh thì việc đình chỉ thai nghén vào 3 tháng đầu của thai kỳ dễ được chấp nhận hơn về tâm lý cũng như ít ảnh hưởng hơn đến sức khỏe của người mẹ.

1.4.2. Chọc ối

Được tiến hành vào tuần thứ 15 – 17 của thai kỳ dưới hướng dẫn của siêu âm. Sau khi lấy được nước ối, người ta sẽ li tâm lấy tế bào nước ối đem nuôi cấy trong môi trường thích hợp sau đó phân tích di truyền để xác định thai nhi có mang bệnh hay không. Nguyên tắc phát hiện bệnh cũng tương tự như với sinh thiết gai rau. Nhược điểm của phương pháp là có thể không lấy đủ lượng ADN để phân tích. Tuy nhiên, với sự tiến bộ của các kỹ thuật PCR nhược điểm này có thể khắc phục được [8].

1.4.3. Định lượng nồng độ yếu tố đông máu của thai nhi

Dưới hướng dẫn của siêu âm, vào tuần thứ 18 - 20 của thai kỳ, qua tĩnh mạch rốn, người ta lấy máu của thai nhi sau đó định lượng yếu tố VIII/IX, thông qua đó biết được thai nhi có bị bệnh hay không. Đây là một thủ thuật khó, chỉ thực hiện khi không xác định được tổn thương di truyền của thành viên bị hemophilia trong gia đình hoặc khi người mẹ không có thông tin sau khi phân tích ADN. Nguy cơ hỏng thai liên quan đến thủ thuật là 1,25%.

1.4.4. Chẩn đoán giới tính thai nhi

Biết sớm giới tính của thai nhi giúp chủ động trong quá trình chẩn đoán trước sinh cũng như chủ động trong quá trình chuyển dạ của người mang gen. Nhiều gia đình chỉ tiến hành chẩn đoán trước sinh nếu thai nhi là nam giới có nguy cơ bị bệnh. Giới tính thai nhi có thể chẩn đoán tương đối chính xác bằng cách phân tích ADN tự do của thai nhi lưu hành trong máu mẹ ở tuần thứ 7 – 9 của thai kỳ; hoặc có thể sử dụng các thủ thuật có xâm lấn (sinh thiết gai rau,

chọc ôi) để phân tích công thức nhiễm sắc thể, hoặc siêu âm từ tuần thứ 11 của thai kì trở đi [8],[30],[48].

1.5. Điều trị

- Mục tiêu chính là dự phòng chảy máu.

- Nếu bệnh nhân có chảy máu cấp thì cần bổ sung yếu tố đông máu càng sớm càng tốt để có thể đạt được đủ nồng độ để cầm chảy máu. Tùy thuộc vào vị trí chảy máu, mức độ chảy máu, mục đích điều trị mà người ta tính toán được liều yếu tố đông máu cần dùng [8],[49].

1.5.1. Kiểm soát chảy máu

Bổ sung yếu tố đông máu bị thiếu hụt đủ để đạt được đông máu có hiệu lực tại vị trí chảy máu.

Việc điều trị thay thế phụ thuộc rất nhiều vào tính chất của các chế phẩm máu có sẵn và thời gian bán hủy của yếu tố đông máu. Thời gian bán hủy của yếu tố VIII là 8 - 12 giờ, của yếu tố IX là 24 giờ. Thời gian bán hủy có thể rút ngắn nếu bệnh nhân chảy máu nhiều hoặc có chất ức chế.

1.5.2. Dự phòng chảy máu

- *Điều trị dự phòng tiên phát:* Bổ sung định kì các yếu tố đông máu bị thiếu hụt cho các bệnh nhân hemophilia mức độ nặng nhằm mục đích duy trì nồng độ yếu tố đông máu của bệnh nhân luôn $> 1\%$, giúp hạn chế chảy máu tự nhiên, bệnh nhân có thể sinh hoạt và làm việc như người bình thường.

- *Điều trị dự phòng thứ phát:* Chỉ định: sau khi chảy máu não, chảy máu khớp tái phát liên tục. Liều trình nên kéo dài trong 3 tháng.

1.6. Phát hiện hemophilia và người mang gen

Hemophilia là một bệnh lí di truyền, kéo dài suốt đời, chi phí điều trị cao và liên quan đến nhiều chuyên khoa nên người bệnh rất cần được phát hiện sớm và quản lí tốt để có thể kéo dài tuổi thọ, giảm tỉ lệ tàn tật, có thể sinh hoạt như người bình thường và có chất lượng sống tốt.

1.6.1. Phát hiện bệnh nhân hemophilia

Phát hiện bệnh nhân hemophilia bao gồm việc xác định các cá nhân bị hemophilia còn chưa được chẩn đoán hoặc những người có vấn đề sức khỏe liên quan đến hemophilia mà chưa được chăm sóc y tế [50].

Ý nghĩa của việc phát hiện bệnh nhân hemophilia: là bước đầu tiên trong chẩn đoán và điều trị, có vai trò rất quan trọng trong việc cải thiện chất lượng chăm sóc người bệnh. Bên cạnh đó, dựa trên số lượng bệnh nhân, chính phủ sẽ chủ động trong việc xây dựng kế hoạch để đảm bảo nguồn lực cho điều trị cũng như để nghiên cứu tìm ra phương thức điều trị tốt hơn đối với bệnh nhân hemophilia.

Năm 2008, Liên đoàn Hemophilia Thế giới đưa ra công thức ước tính số bệnh nhân hemophilia (prevalence) của một quốc gia như sau:

$$\text{Số bệnh nhân} = (\text{Dân số} : 2.000.000) \times 133 \text{ [50]}$$

Từ năm 1998, hàng năm, Liên đoàn Hemophilia Thế giới đã thu thập số liệu toàn cầu về hemophilia, và mới đây cả về các rối loạn chảy máu di truyền khác như von Willebrand, bất thường chức năng tiểu cầu.... Năm 2014, điều tra cho thấy số bệnh nhân rối loạn chảy máu được chẩn đoán trên toàn cầu là 296.066 trong đó có 178.500 bệnh nhân hemophilia. Con số này mới chỉ là một phần của số bệnh nhân thực mắc trong khi số bệnh nhân ước tính là 400.000 người [51].

Mặc dù tỉ lệ bệnh nhân sinh ra bị hemophilia (incidence) giống nhau trên toàn cầu, song tỉ lệ bệnh nhân còn sống (prevalence) lại phụ thuộc rất nhiều vào điều kiện chăm sóc của mỗi nước, vì nếu không được chăm sóc đầy đủ thì nhiều bệnh nhân sẽ chết sớm. Theo Liên đoàn Hemophilia Thế giới, để giảm được tỉ lệ bệnh nhân hemophilia chết sớm ở một nước thì lượng yếu tố VIII/IX cô đặc cần cung cấp tối thiểu là 1 đơn vị/1 đầu người, còn để cho bệnh nhân có thể tham gia các hoạt động xã hội thì lượng yếu tố cô đặc cần

tối thiểu là 2 đơn vị/1 đầu người [51]. Theo nghiên cứu năm 1998 của Trung tâm Dự phòng và kiểm soát bệnh tật Mỹ, tại Mỹ có trên 17.000 bệnh nhân hemophilia được chẩn đoán và quản lý, lượng yếu tố cô đặc được sử dụng tính trên đầu người dân là 7,895 đơn vị yếu tố VIII và 1,579 đơn vị yếu tố IX, gần cao nhất thế giới [52]. Tuy nhiên, vẫn còn có các bệnh nhân chưa được chăm sóc tốt ở một số dân tộc và nhóm văn hóa Mỹ [50].

Với 93 triệu dân, theo công thức trên, Việt Nam có khoảng 6185 bệnh nhân hemophilia. Tuy nhiên, theo điều tra năm 2014, số bệnh nhân được chẩn đoán trên toàn quốc mới chỉ là 2373 người, chiếm xấp xỉ 40%, còn tới 60% bệnh nhân vẫn chưa được chẩn đoán [51]. Như vậy, việc phát hiện bệnh nhân mới trở nên hết sức cấp bách ở nước ta.

Để phát hiện bệnh nhân mới có 3 cách: (1) tuyên truyền đào tạo để bệnh nhân đến đúng cơ sở chuyên khoa; (2) điều tra dịch tễ; (3) phát hiện chủ động qua việc lần theo dấu vết bệnh nhân đã được chẩn đoán... Tùy vào hoàn cảnh cụ thể mà có thể triển khai tất cả các hình thức hoặc triển khai đơn lẻ, tuy nhiên, nếu phối hợp càng nhiều hình thức thì hiệu quả phát hiện bệnh nhân mới càng cao.

Các bước để chẩn đoán người bệnh mới gồm: phát hiện bệnh nhân và chẩn đoán tại bệnh viện.

1.6.1.1. Phương pháp lần theo dấu vết

Hemophilia là bệnh lí di truyền nên trong một gia đình bệnh nhân có thể có nhiều người bị bệnh. Căn cứ vào phả hệ của người bệnh đã được chẩn đoán có thể phát hiện ra các trường hợp bệnh nhân mới, các trường hợp chắc chắn mang gen cũng như những người có khả năng mang gen. Đây gọi là phương pháp “Lần theo dấu vết”. Từ năm 1998 một số nước trên thế giới đã áp dụng phương pháp này cho thấy hiệu quả cao trong phát hiện sớm bệnh nhân hemophilia. Tại Mexico, năm 2001 chỉ có 231 bệnh nhân được chẩn đoán

(chiếm 41% so với bệnh nhân ước tính) bằng phương pháp lần theo dấu vết, sau 4 năm đã phát hiện được thêm 444 bệnh nhân mới, đưa tỉ lệ bệnh nhân được chẩn đoán lên 72% tổng số bệnh nhân ước tính [50]. Tại Philippin, chiến dịch phát hiện bệnh nhân mới được triển khai từ năm 2000, kết quả đến năm 2009, số lượng bệnh nhân được chẩn đoán tăng từ 416 lên 1077 trong đó có 270 người được phát hiện bằng phương pháp “lần theo dấu vết” [53]. Tại Venezuela, với việc hướng vào các thành viên nam giới trong gia đình bệnh nhân, mỗi năm đã có thêm khoảng 60 bệnh nhân mới được phát hiện [50], [54].

Qua các kết quả thực tế ở các quốc gia đã chứng minh, “lần theo dấu vết” là phương pháp có hiệu quả nhất để phát hiện bệnh nhân mới về mặt thời gian, chi phí....Phương pháp này cũng đã được Liên đoàn Hemophilia Thế giới khuyến cáo áp dụng cho các bệnh rối loạn chảy máu di truyền khác [50].

1.6.1.2. Chẩn đoán tại bệnh viện

Là khâu cuối cùng trong quy trình phát hiện bệnh nhân mới. Để chẩn đoán bệnh nhân cần kết hợp giữa lâm sàng và xét nghiệm trong đó định lượng yếu tố VIII/IX $< 40\%$ là tiêu chuẩn vàng.

Có ba phương pháp định lượng yếu tố VIII/IX là phương pháp 1 thì, phương pháp 2 thì và phương pháp đo quang so màu trong đó được sử dụng phổ biến hơn là phương pháp 1 thì do đơn giản, dễ áp dụng. Xét nghiệm APTT và định lượng yếu tố VIII/IX có thể làm bằng máy tự động, bán tự động, thậm chí có thể làm thủ công.

1.6.2. Phát hiện người mang gen hemophilia

Chẩn đoán tình trạng mang gen cho người phụ nữ là khâu quan trọng trong chăm sóc toàn diện hemophilia. Nó giúp cho người phụ nữ chủ động trong cuộc sống, đặc biệt trong việc kết hôn, sinh đẻ, kế hoạch hóa gia đình. Đây cũng là tiền đề cho việc chẩn đoán trước sinh, giúp chủ động trong điều

trị, chăm sóc em bé ngay khi ra đời cũng như góp phần vào nâng cao chất lượng dân số và làm giảm tỷ lệ mắc mới bệnh di truyền trong cộng đồng. Bên cạnh đó, việc được chẩn đoán không phải là người mang gen bệnh cũng có ý nghĩa hết sức to lớn, giúp cho người phụ nữ trong gia đình bệnh nhân hemophilia yên tâm, giải tỏa tâm lí lo lắng, cải thiện chất lượng cuộc sống.

Có nhiều phương pháp phát hiện người mang gen: dựa vào phân tích phả hệ, nồng độ các yếu tố đông máu, phân tích tổn thương di truyền... Việc phối hợp các phương pháp có thể phát hiện được gần như 100% các trường hợp trong đó dựa vào phân tích phả hệ là phương pháp được áp dụng đầu tiên. Đây là phương pháp đơn giản, có thể cho biết tình trạng người phụ nữ trong gia đình bệnh nhân chắc chắn mang gen hoặc có khả năng mang gen để từ đó đưa ra các chiến lược chẩn đoán cho phù hợp với đặc điểm chủng tộc, kinh tế, nhân lực, văn hóa và tôn giáo của từng quốc gia. Carol Kasper và cộng sự (Mỹ) sau khi phân tích 731 phả hệ của các bệnh nhân nhận thấy trong những gia đình này, ứng với mỗi 100 người bệnh hemophilia được sinh ra có khoảng 156 người chắc chắn mang gen [55]. Tại Ấn Độ, Shetty và cộng sự sau khi phân tích 102 phả hệ của bệnh nhân hemophilia bao gồm 563 thành viên đã xác định được 99 người chắc chắn mang gen và 189 người có khả năng mang gen [56]. Các tác giả M. Singh và H. Kaur cũng phát hiện được 130 người chắc chắn mang gen sau khi phân tích 425 phụ nữ thuộc 37 gia đình hemophilia [57].

- Về mặt khoa học, thời điểm chẩn đoán người mang gen được cho là phù hợp nhất là trước khi người phụ nữ có kinh nguyệt lần đầu; nếu không thì tiến hành trước khi có thai để có đủ thời gian làm xét nghiệm cũng như lên kế hoạch cho việc chẩn đoán trước sinh nếu cần.

- Tất cả những người chắc chắn mang gen và có khả năng mang gen đều nên được làm xét nghiệm yếu tố đông máu. Nếu có nồng độ yếu tố VIII/IX

<40% thì người đó được coi như bệnh nhân hemophilia.

- Người mang gen có thai cần được quản lí chặt chẽ và được bác sĩ Huyết học và Sản khoa tư vấn đầy đủ về xác suất sinh con bị bệnh/mang gen bệnh, về nguy cơ chảy máu xảy ra đối với mẹ và con trong quá trình chuyển dạ và sau đẻ. Cần kiểm tra nồng độ yếu tố VIII/IX ít nhất 1 lần trong thời gian mang thai, đặc biệt là vào 3 tháng cuối. Nếu nồng độ yếu tố VIII/IX thấp thì phải bổ sung để đảm bảo an toàn cho cuộc đẻ. Cuộc chuyển dạ của người mang gen cần theo dõi chặt chẽ và không nên kéo dài vì nguy cơ chảy máu đối với con. Nếu đứa trẻ sinh ra là trai cần làm xét nghiệm chẩn đoán tình trạng bị hemophilia sớm để có kế hoạch quản lí và chăm sóc kịp thời [30],[33].

1.6.1.3. Phát hiện bệnh nhân hemophilia và người mang gen tại Việt Nam

Tại Việt Nam, công tác phát hiện bệnh nhân mới đã được quan tâm từ cuối thế kỉ 20. Năm 1997, tác giả Cung Thị Tý và cộng sự đã điều tra dịch tễ theo phương pháp phân tầng, xác định được tỉ lệ mắc hemophilia tại khu vực phía Bắc là 25 – 60 người/1 triệu dân và đồng thời phát hiện được một số bệnh nhân mới [58]. Năm 2011, tác giả Dương Bá Trục cũng triển khai chiến dịch phát hiện bệnh nhân mới tại hai tỉnh Bắc Giang và Hải Phòng [59],[60]. Tại viện Huyết học – Truyền máu Trung ương, kể từ năm 2005, song song với việc tăng cường đào tạo cán bộ y tế, tuyên truyền trên nhiều kênh thông tin, công tác phát hiện bệnh nhân mới bằng phương pháp “lần theo dấu vết” đã được triển khai. Các bệnh nhân được khai thác tiền sử gia đình, vẽ phả hệ, xác định các đối tượng trong gia đình có khả năng mắc bệnh hoặc mang gen rồi mời lên bệnh viện hoặc đến tận nhà làm xét nghiệm chẩn đoán và quản lí. Kết quả là số lượng bệnh nhân được chẩn đoán và quản lí tăng hàng năm, trong đó có hàng trăm bệnh nhân và hàng chục người mang gen được phát hiện bằng phương pháp này [61]. Mặc dù vậy, theo điều tra năm 2014 thì số

bệnh nhân trên toàn quốc được quản lý mới chỉ chiếm 40%, còn rất nhiều gia đình có nhiều người bị bệnh, còn nhiều dòng họ có nhiều đời bị bệnh vẫn chưa được chẩn đoán dẫn tới nhiều biến chứng và hệ lụy. Bởi vậy việc lần theo phả hệ để phát hiện thêm những bệnh nhân mới vẫn là công việc cần được đẩy mạnh nhằm giúp cho người bệnh được chẩn đoán sớm và chẩn đoán đúng, được điều trị kịp thời và được tư vấn về cách tự chăm sóc, tư vấn di truyền nhờ vậy sẽ hạn chế biến chứng do chẩn đoán muộn gây ra.

Hiện trên cả nước đã có một số cơ sở như Viện Huyết học – Truyền máu trung ương, Trường Đại học Y Hà Nội, Trường Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh...triển khai các phương pháp phát hiện người mang gen như: phân tích phả hệ, phân tích yếu tố đông máu, tìm đảo đoạn intron 22, tìm đảo đoạn intron 1, giải trình tự, phân tích liên kết (*BclI* đối với hemophilia A; *MseI*, *HhaI*, *Xmn* ...đối với hemophilia B)...[62],[63],[64],[65]. Tại viện Huyết học – Truyền máu trung ương, việc chẩn đoán và quản lý người mang gen đã được triển khai từ năm 2007 [62]. Tác giả Phạm Quang Vinh đã cho thấy tỉ lệ dị hợp tử của *BclI* trên quần thể người Việt Nam là 48% và *BclI* phù hợp để phân tích tình trạng mang gen cho người phụ nữ trong gia đình hemophilia [62]. Nguyễn Thị Mai năm 2014 nghiên cứu trên 258 bệnh nhân hemophilia phát hiện tỉ lệ đảo đoạn intron 22 là 31,5% và đảo đoạn intron 1 là 1,15%, áp dụng chẩn đoán tình trạng mang gen cho 12 phụ nữ cho kết quả 7 người mang gen và 5 người không mang gen [64]. Bùi Thị Thu Hương năm 2014 cũng đã nghiên cứu áp dụng chẩn đoán tình trạng mang gen cho 116 thành viên nữ và chẩn đoán trước sinh cho một số thành viên trong gia đình hemophilia [66]. Đây là những kết quả ban đầu rất đáng khích lệ. Mặc dù vậy, công tác phát hiện và quản lý người mang gen vẫn còn chưa có tính hệ thống và chưa được quan tâm đúng mực ở các trung tâm hemophilia.

Chương 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

Là bệnh nhân và người nhà bệnh nhân bao gồm:

- *Nhóm 1*: 100 bệnh nhân hemophilia A không có quan hệ huyết thống đã được chẩn đoán tại viện Huyết học - Truyền máu trung ương (quy ước là bệnh nhân gốc).

- *Nhóm 2*: 1402 thành viên trong gia đình của 100 bệnh nhân gốc là những người có khả năng mắc bệnh hoặc mang gen bệnh hemophilia bao gồm:

+ 869 nam giới: Là những người có khả năng mắc bệnh hemophilia;

+ 533 nữ giới: Là những người có khả năng mang gen hoặc chắc chắn mang gen hemophilia (gọi chung là nữ có liên quan đến hemophilia);

- *Nhóm 3*: 70 người phụ nữ khỏe mạnh (nhóm chứng).

2.1.2. Tiêu chuẩn lựa chọn và loại trừ

2.1.2.1. Nhóm 1: Các bệnh nhân gốc

* *Tiêu chuẩn lựa chọn*:

- Bệnh nhân đã được chẩn đoán hemophilia A dựa vào biểu hiện lâm sàng, định lượng yếu tố VIII < 40%.

- Có khả năng khai thác tiền sử gia đình từ 3 thế hệ trở lên.

- Tự nguyện tham gia nghiên cứu.

* *Tiêu chuẩn loại trừ*:

- Không khai thác được tiền sử gia đình đủ 3 thế hệ.

- Thành viên trong gia đình không có khả năng tập hợp và tham gia nghiên cứu.

- Không đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.1.2.2. Nhóm 2:

Các thành viên trong gia đình bệnh nhân gốc có khả năng mắc bệnh hoặc mang gen bệnh hemophilia xác định theo quy luật di truyền Mendel.

a. Nam giới có khả năng mắc hemophilia:

- Các thành viên có quan hệ huyết thống với bệnh nhân thỏa mãn điều kiện:

+ Cùng thế hệ hoặc trước thế hệ với bệnh nhân: Anh em ruột, những người họ hàng bên mẹ bao gồm anh em họ, cậu ruột, cậu họ, bác ruột, bác họ, ông ngoại, ông họ, cụ ngoại, cụ họ...

+ Các thế hệ sau của bệnh nhân: Là những nam giới có bệnh nhân là họ hàng bên mẹ bao gồm cháu gọi bằng cậu, cháu gọi là ông ngoại, chắt ngoại...

- Có thể khai thác được thông tin về tình trạng chảy máu bất thường của thành viên đó.

- Tự nguyện tham gia nghiên cứu.

Đối với những người có khả năng mắc bệnh đã tử vong thì khai thác người nhà về triệu chứng chảy máu và nguyên nhân tử vong của người đó.

b. Nữ giới có liên quan đến hemophilia:

Mẹ, chị em ruột, con gái và những người có quan hệ huyết thống bên ngoại với bệnh nhân bao gồm:

- Cùng thế hệ: chị em họ;
- Trên 1 thế hệ: dì, già, dì già họ;
- Trên 2 thế hệ: bà ngoại, bà họ;
- Trên 3 thế hệ: cụ ngoại, cụ họ;
- Trên 4 thế hệ trở lên: kị ngoại, kị họ...;
- Sau 1 thế hệ: cháu gọi bằng cậu, cháu gọi bằng bác (ruột hoặc họ);
- Sau 2 thế hệ: cháu gọi là ông;

- Sau 3 thế hệ: chất gọi là cụ.

Trong số này xác định 2 đối tượng

- Nữ giới có khả năng mang gen:

Là những người thỏa mãn 1 trong 3 điều kiện:

+ Có 1 con bị hemophilia;

+ Có 1 thành viên trong gia đình được chẩn đoán hemophilia;

+ Là con của người mang gen.

- Nữ giới chắc chắn mang gen bệnh:

Là những người thỏa mãn 1 trong 4 điều kiện sau:

+ Có bố là bệnh nhân hemophilia;

+ Có ít nhất 2 con trai bị bệnh;

+ Có 1 con trai bị bệnh và có ít nhất 1 thành viên nam giới trong họ mẹ bị hemophilia;

+ Có 1 con trai bị bệnh và ít nhất 1 thành viên nữ trong gia đình họ mẹ được chẩn đoán là người mang gen.

Trong nhóm nữ chắc chắn mang gen chọn ra 83 người thỏa mãn điều kiện: tuổi từ 14 - 50, không có thai và không uống thuốc tránh thai, không bị viêm gan để so sánh với nhóm chứng.

2.1.2.3. Nhóm 3 (nhóm chứng):

70 người phụ nữ khỏe mạnh được xác định bằng kiểm tra sức khỏe định kì.

* Tiêu chuẩn lựa chọn:

- Tuổi từ 14 - 50;

- Tự nguyện tham gia nghiên cứu.

* Tiêu chuẩn loại trừ:

- Có thai hoặc uống thuốc tránh thai;

- Trong gia đình có người bị hemophilia;

- Không đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Mô tả cắt ngang, hồi cứu.

2.2.2. Các chỉ số nghiên cứu

2.2.2.1. Nhóm đối tượng 1:

Nội dung	Chỉ số	Biến
Nhân khẩu học	Tuổi	Định tính
	Giới	Định tính
	Tiền sử gia đình	Định tính
	Khả năng khai thác tiền sử gia đình	Định tính
	Mức độ bệnh	Định tính
Đông máu	Nồng độ yếu tố VIII	Định lượng
Xác định đột biến và đa hình gen yếu tố VIII	Đảo đoạn intron 22	Định tính
	Đảo đoạn intron 1	Định tính
	Giải trình tự gen yếu tố VIII	Định tính
	Đa hình đoạn cắt enzym giới hạn <i>BclI</i> /intron 18	Định tính
Xác định đa hình yếu tố IX	Đa hình đoạn cắt enzym giới hạn <i>MseI</i>	Định tính

2.2.2.2. Nhóm đối tượng 2:

* Nam giới:

Nội dung	Chỉ số	Biến
Nhân khẩu học	Tuổi	Định lượng
	Giới	Định tính
	Tuổi chẩn đoán	Định lượng

	Còn sống hay đã tử vong	Định tính
	Nguyên nhân tử vong	Định tính
	Tuổi thọ	Định lượng
Thể bệnh và mức độ bệnh	Thể bệnh	Định tính
	Mức độ bệnh	Định tính
Triệu chứng lâm sàng	Vị trí chảy máu	Định tính
	Cứng khớp	Định tính
	Teo cơ	Định tính
	Liệt thần kinh	Định tính
Đông máu	APTT	Định lượng
	PT	Định lượng
	TT	Định lượng
	Fibrinogen	Định lượng
	Số lượng tiểu cầu	Định lượng
	Kháng đông nội sinh	Định tính
	Yếu tố VIII	Định lượng
	Yếu tố IX	Định lượng
	Yếu tố VII	Định lượng

* Nữ giới:

Nội dung	Chỉ số	Biến
Nhân khẩu học	Tuổi	Định tính
	Giới	Định tính
Tình trạng mang gen	Chắc chắn mang gen	Định tính
	Có khả năng mang gen	Định tính
	Không mang gen	Định tính

Triệu chứng lâm sàng	Vị trí chảy máu	Định tính
Đông máu	APTT	Định lượng
	Yếu tố VIII	Định lượng
	Yếu tố von Willebrand Antigen (vWF:Ag)	Định lượng
	Yếu tố VII	Định lượng
	Yếu tố IX	Định lượng
Xác định đột biến và đa hình gen yếu tố VIII	Đảo đoạn intron 22	Định tính
	Giải trình tự gen yếu tố VIII	Định tính
	Đa hình đoạn cắt enzym giới hạn <i>BclI</i> /intron 18	Định tính
Xác định đa hình yếu tố IX	Đa hình đoạn cắt enzym giới hạn <i>MseI</i>	Định tính
Nữ giới có khả năng mang gen có thai	Phân tích đột biến hoặc đa hình mẫu nước ối để chẩn đoán trước sinh cho thai nhi.	Định tính

2.2.2.3. Nhóm đối tượng 3:

Xét nghiệm	Chỉ số	Biến
Nhân khẩu học	Tuổi	Định tính
	Giới	Định tính
Đông máu	Yếu tố VIII	Định lượng
	Yếu tố von Willebrand Antigen (vWF:Ag)	Định lượng
	Tỉ số VIII/vWF:Ag	Định lượng

2.2.3. Phương pháp chọn mẫu, các bước tiến hành

Phương pháp chọn mẫu: Chọn mẫu thuận tiện theo các bước sau.

- Từ các bệnh nhân hemophilia A đã được chẩn đoán và quản lý tại Viện Huyết học - Truyền máu TW, khai thác tiền sử và lập phả hệ của gia đình bệnh nhân.

- Phân tích phả hệ xác định các đối tượng nam giới có khả năng bị bệnh, các đối tượng nữ giới có khả năng mang gen và chắc chắn mang gen.

- Phát hiện các biểu hiện chảy máu và biến chứng của chảy máu của các đối tượng nghiên cứu bằng cách cho trả lời bộ câu hỏi và khám lâm sàng. Đối với những người nam giới có biểu hiện chảy máu thì tiến hành làm các xét nghiệm sàng lọc đông máu vòng đầu bao gồm: tổng phân tích tế bào máu ngoại vi, PT, APTT, TT, fibrinogen. Với những thành viên nam giới có khả năng bị bệnh trong gia đình bệnh nhân mức độ nhẹ mà không có biểu hiện chảy máu bất thường cũng cho làm xét nghiệm sàng lọc.

- *Đối với những người nam giới:*

+ Nếu kết quả APTT kéo dài ($rAPTT > 1,25$): làm xét nghiệm kháng đông nội sinh (mix test), định lượng yếu tố VIII để chẩn đoán.

+ Những trường hợp đặc biệt thì tùy theo đặc điểm xét nghiệm sàng lọc vòng đầu mà chỉ định các xét nghiệm chuyên sâu để có chẩn đoán xác định.

- *Đối với các phụ nữ mang gen và có khả năng mang gen:*

Làm xét nghiệm APTT, định lượng yếu tố VIII, định lượng yếu tố von Willebrand antigen (vWF:Ag), tính tỉ số VIII/vWF:Ag. Với những người có APTT kéo dài ($rAPTT > 1,25$) thì làm thêm xét nghiệm tìm kháng đông nội sinh.

Việc phỏng vấn, khám lâm sàng, lấy máu xét nghiệm, tư vấn có thể thực hiện tại Viện hoặc tại nhà bệnh nhân. Nếu thực hiện tại nhà bệnh nhân thì kết hợp tập huấn cho cán bộ y tế cơ sở (trạm y tế xã phường và phòng y tế huyện) nơi bệnh nhân cư trú và bệnh nhân, người nhà bệnh nhân về bệnh và cách tự chăm sóc.

- Đối với nhóm phụ nữ bình thường (nhóm chứng):

+ Định lượng yếu tố VIII và vWF:Ag;

+ Xác định tỉ số VIII/vWF:Ag.

- Trong số các phụ nữ mang gen chọn ra 83 người có cùng độ tuổi với nhóm phụ nữ bình thường, không có thai và không uống thuốc tránh thai để so sánh tỉ số VIII/vWF:Ag với nhóm phụ nữ bình thường, sau đó tìm ra tỉ số ngưỡng VIII/vWF:Ag, tính độ nhạy và độ đặc hiệu để áp dụng chẩn đoán tình trạng mang gen cho các đối tượng phụ nữ có khả năng mang gen còn lại.

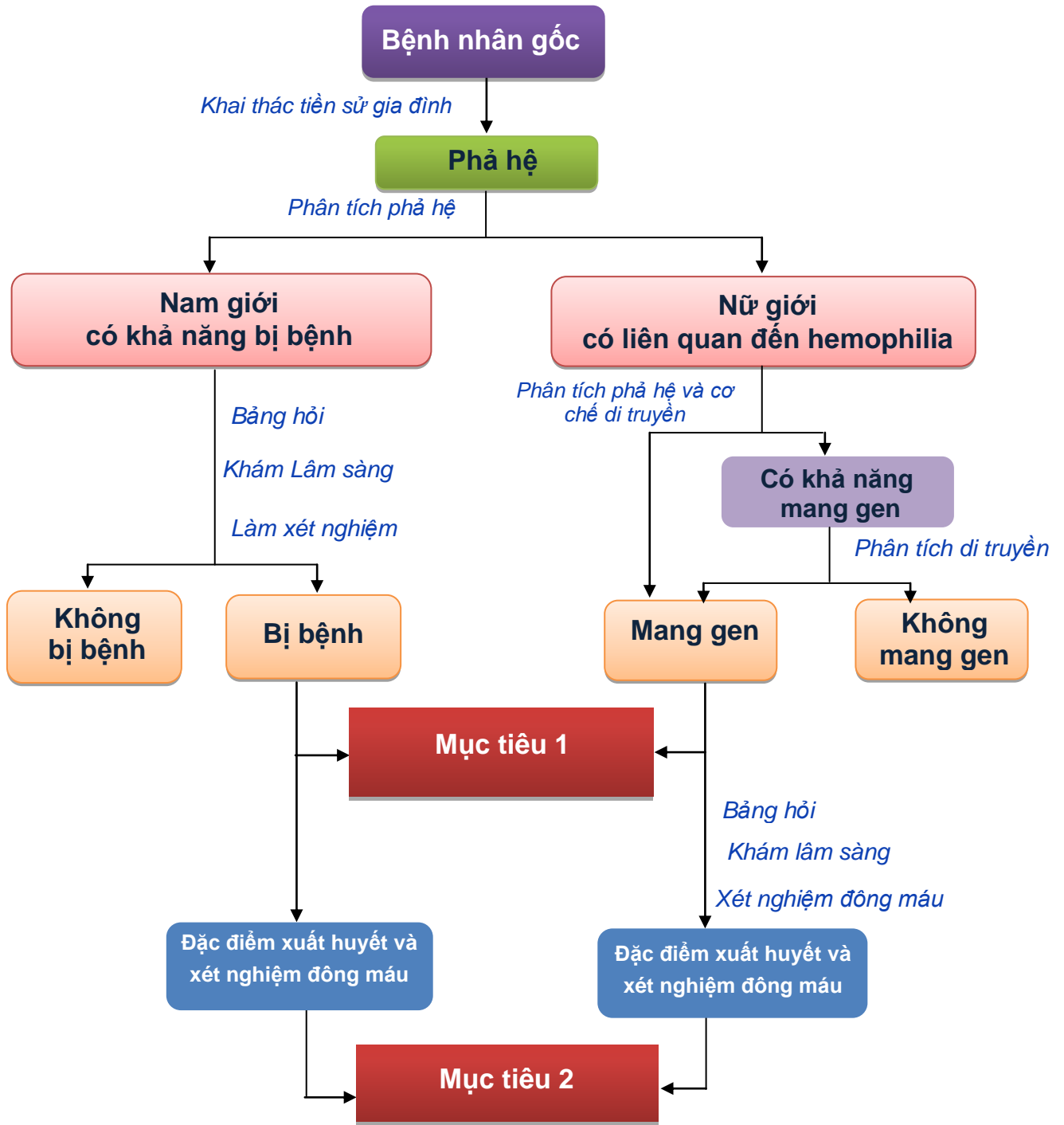
- Đối với 17 phụ nữ có khả năng mang gen thỏa mãn điều kiện có mẹ là người mang gen dị hợp tử với *BclI* và có đầy đủ mẫu máu của những người có liên quan trong gia đình (bao gồm: mẹ, bố, người bệnh) thì áp dụng phân tích PCR-RFLP với *BclI* để xác định tình trạng mang gen cho người phụ nữ này.

- Đối với người phụ nữ có khả năng mang gen hemophilia B trong gia đình số 77 có mẹ mang gen hemophilia B dị hợp tử với *MseI* thì áp dụng PCR-RFLP với *MseI* để xác định tình trạng mang gen cho người phụ nữ đó.

- Đối với 71 người phụ nữ có khả năng mang gen mà thành viên hemophilia trong gia đình đã phát hiện được đột biến gen yếu tố VIII bằng phân tích đảo đoạn intron 22 và đảo đoạn intron 1 hoặc bằng giải trình tự thì áp dụng chẩn đoán tình trạng mang gen bằng cách tìm các đột biến này.

- Kiểm chứng kết quả của phương pháp phân tích VIII/vWF:Ag bằng kết quả PCR-RFLP với *BclI*/intron 18, đảo đoạn intron 22, đảo đoạn intron 1 và giải trình tự gen.

- Phối hợp phân tích phả hệ và tỉ số ngưỡng để chẩn đoán trước sinh cho 4 trường hợp mang gen và nghi ngờ mang gen đang có thai bằng phương pháp PCR-RFLP với *BclI*/intron 18.



Sơ đồ 2.1. Sơ đồ nghiên cứu

2.3. Các tiêu chuẩn đánh giá, kĩ thuật sử dụng

2.3.1. Các tiêu chuẩn chẩn đoán

2.3.1.1. Tiêu chuẩn chẩn đoán thể bệnh, mức độ bệnh hemophilia

Theo “Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị hemophilia” của Liên đoàn Hemophilia Thế giới năm 2013 [8].

a. Chẩn đoán thể bệnh:

- Nam giới, có tiền sử chảy máu lâu cầm tái phát nhiều lần ;
- Gia đình có thành viên nam giới trong họ mẹ có biểu hiện chảy máu bất thường;
- APTT kéo dài;
- Định lượng yếu tố VIII: < 40% (Hemophilia A);
- Định lượng yếu tố IX: < 40% (Hemophilia B);
- Các xét nghiệm: số lượng tiểu cầu, PT, TT, fibrinogen, định lượng yếu tố von Willebrand bình thường.

b. Chẩn đoán mức độ bệnh:

- Mức độ nặng: nồng độ yếu tố VIII/IX < 1%, chảy máu tự nhiên hoặc sau chấn thương.
- Mức độ trung bình : Nồng độ yếu tố VIII/IX 1 - 5%, chảy máu sau chấn thương nhỏ hoặc tự nhiên.
- Mức độ nhẹ: Nồng độ yếu tố VIII từ 5 - 40%, thường chỉ chảy máu sau chấn thương lớn hoặc sau can thiệp, phẫu thuật.

2.3.1.2. Tiêu chuẩn chẩn đoán thiếu yếu tố VII bẩm sinh

Theo Kenneth D. Friedman và George M. Rodgers 2009 [67].

- Bệnh nhân có biểu hiện chảy máu kéo dài hoặc không;
- Tiền sử gia đình có người bị chảy máu bất thường hoặc không;
- PT% giảm, APTT bình thường, fibrinogen bình thường, TT bình thường, số lượng tiểu cầu bình thường.
- Nồng độ yếu tố VII < 40%.

2.3.1.3. Tiêu chuẩn chẩn đoán người chắc chắn mang gen và người có khả năng mang gen theo phân tích phả hệ

Theo tiêu chuẩn của Liên đoàn Hemophilia Thế giới 2008 và 2013 [8],[32]:

* *Người chắc chắn mang gen bệnh trong gia đình bệnh nhân hemophilia* là các thành viên nữ thỏa mãn 1 trong 4 điều kiện sau

- + Có bố là bệnh nhân hemophilia;
- + Có ít nhất 2 con trai bị bệnh;
- + Có 1 con trai bị bệnh và có ít nhất 1 thành viên nam giới trong họ mẹ bị hemophilia;
- + Có 1 con trai bị bệnh và ít nhất 1 thành viên nữ trong gia đình họ mẹ được chẩn đoán là người mang gen.

* *Người có khả năng mang gen bệnh trong gia đình bệnh nhân hemophilia* là các thành viên nữ thỏa mãn 1 trong 3 điều kiện:

- + Có 1 con bị hemophilia;
- + Có 1 thành viên trong gia đình được chẩn đoán hemophilia ;
- + Là con của người mang gen bệnh.

2.3.1.4. Tiêu chuẩn có biểu hiện bất thường chảy máu

Theo tiêu chuẩn của ISTH năm 2010 [68]. Người có ít nhất 1 trong các biểu hiện sau được coi là người có chảy máu bất thường:

1. *Chảy máu mũi*: kéo dài trên 10 phút với tần suất ≥ 5 lần/năm, không liên quan đến nhiễm trùng đường hô hấp trên hay các nguyên nhân khác (như không khí khô bụi).
2. *Xuất huyết dưới da*: Có > 5 vết (kích thước > 1 cm) xuất hiện tự nhiên trên da, được bệnh nhân và người nhà ghi nhận, hoặc bầm tím không liên quan đến va đập.
3. *Vết thương nhỏ trên da* (ví dụ do dao cạo, kéo gây ra): chảy máu trên 10 phút, phải thay băng thường xuyên hoặc chảy máu tái diễn.

4. Chảy máu khoang miệng:

- Chảy máu nướu lợi kéo dài 10 phút hoặc hơn.
- Chảy máu chân răng tự nhiên không tự cầm, đòi hỏi sự can thiệp của bác sĩ hoặc kéo dài từ 10 phút trở lên.
- Chảy máu xảy ra sau khi cắn ở môi, má, lưỡi kéo dài trên 10 phút hoặc gây ra sung lưỡi hoặc miệng.

5. *Xuất huyết tiêu hóa (Nôn máu, đi ngoài phân đen, phân lẫn máu)*: Bất kì xuất huyết tiêu hóa nào mà không tìm được nguyên nhân cụ thể.

6. *Tiểu máu*: Nước tiểu từ hồng nhạt tới đỏ máu mà không giải thích được bằng những bệnh lý đường tiết niệu.

7. *Chảy máu sau nhổ răng*: Bất kì những chảy máu sau khi rời khỏi phòng nha sĩ và yêu cầu can thiệp mới hoặc những chảy máu kéo dài gây chậm trễ trong quá trình nhổ răng cũng được coi là dấu hiệu gợi ý.

8. *Chảy máu sau mổ*: Bất kì chảy máu bất thường nào trong cuộc phẫu thuật gây kéo dài cuộc mổ hoặc đòi hỏi can thiệp hỗ trợ từ bác sĩ.

9. *Cường kinh, rong kinh*: Kinh nguyệt được cho là bất thường nếu có một trong các dấu hiệu sau: phải thay băng vệ sinh thường xuyên hơn mỗi 2 giờ, hành kinh kéo dài trên 7 ngày, có máu cục máu đông >1 cm hoặc có những lần ra ồ ạt.

10. *Chảy máu sau đẻ*: Chảy máu âm đạo hoặc sản dịch ra kéo dài hơn 6 tuần. Bất kì chảy máu nào được bác sĩ sản khoa cho là bất thường, bao gồm chảy máu kéo dài đòi hỏi can thiệp, hoặc phải thay băng vệ sinh thường xuyên hơn mỗi 2 giờ, hoặc gây ra thiếu máu tiến triển cũng được coi là dấu hiệu cảnh báo.

11. *Chảy máu cơ khớp*: Chảy máu cơ khớp tự nhiên không liên quan đến chấn thương.

12. *Chảy máu não*: Bất kì chảy máu dưới màng cứng hay xuất huyết nội sọ nào cần chẩn đoán và can thiệp.

13. *Các triệu chứng chảy máu khác*: Triệu chứng xuất huyết xảy ra trong thời kì sơ sinh do bệnh nhân và người nhà ghi nhận đều cần được xem xét.

2.3.2. Các kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu

2.3.2.1. Bộ câu hỏi phỏng vấn

Nhằm phát hiện các trường hợp có biểu hiện/tiền sử chảy máu bất thường. Sử dụng bộ câu hỏi sàng lọc được cung cấp kèm theo trong phụ lục.










2.3.2.2. Khám lâm sàng















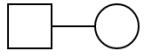
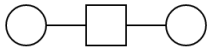
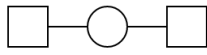
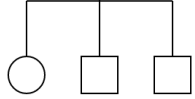
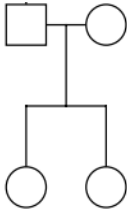
Phát hiện các biểu hiện chảy máu và biến chứng của chảy máu: xuất huyết dưới da, chảy máu răng lợi, chảy máu mũi, tụ máu khớp, tụ máu cơ, teo cơ, cứng khớp, thiếu máu, liệt thần kinh...

2.3.2.3. Vẽ sơ đồ phả hệ

Phả hệ được vẽ trên phần mềm Genial Pedigree Draw phiên bản trực tuyến do công ty Giải pháp di truyền Genial có trụ sở tại Anh cung cấp miễn phí tại địa chỉ <http://www.pedigreedraw.com/>. Các ký hiệu sử dụng trong phả hệ dựa vào quy ước vẽ phả hệ của hội Tư vấn di truyền quốc gia (Mỹ) năm 2008 [28].

Bảng 2.1. Ý nghĩa của các ký hiệu sử dụng trong phả hệ

Ý nghĩa của ký hiệu	Ký hiệu
Nam giới	
Nữ giới	
Thai nhi	
Người bình thường	  
Người đã chết	  

Người bệnh	 , hoặc  , hoặc 
Thành viên bị bệnh đầu tiên được nghiên cứu	
Người chắc chắn mang gen	
Người chắc chắn mang gen trong trường hợp đặc biệt nghiên cứu nhiều tính trạng di truyền trên cùng một gia đình thì kí hiệu như hình bên	   Hoặc    Hoặc   
Vợ chồng	
Hai vợ	
Hai chồng	
Anh chị em cùng bố mẹ	
Bố mẹ và các con	
Các thế hệ	I, II, III, IV
Anh em cùng một thế hệ	1, 2, 3, 4...

2.3.2.4. Các xét nghiệm

a. Mẫu xét nghiệm:

- 2 ml máu tĩnh mạch chống đông bằng EDTA để phân tích tế bào máu ngoại vi.

- 4 ml máu tĩnh mạch chống đông bằng natricitrat 3,8% làm xét nghiệm đông máu.

- 2 ml máu tĩnh mạch chống đông bằng EDTA để phân tích tổn thương gen *F8*.

b. Tổng phân tích tế bào máu ngoại vi

Phân tích các chỉ số: Hb, số lượng tiểu cầu, được thực hiện tại khoa Tế bào - Tổ chức học – Viện Huyết học – Truyền máu TW bằng máy đếm tế bào tự động XT - 2000 của hãng Sysmex – Nhật Bản.

c. Các xét nghiệm đông máu

Được thực hiện tại khoa Đông máu, Viện Huyết học – Truyền máu TW.

+ Thực hiện các xét nghiệm PT, APTT, TT, định lượng fibrinogen, định lượng yếu tố VIII bằng phương pháp 1 thì trên máy ACL 7000 của Ý với thuốc thử của hãng IL.

+ Định lượng yếu tố vWF:Ag bằng phương pháp miễn dịch: gắn hạt latex và đo độ đục.

- *APTT* (Activater Partial Thromboplastin Time - Thời gian thromboplastin từng phần hoạt hóa):

Nguyên lí: Thời gian phục hồi calci của huyết tương đã được citrat hóa sau khi ủ với một lượng thừa kaolin (hoạt hóa yếu tố tiếp xúc) và cephalin (thay thế yếu tố 3 tiểu cầu) giúp đánh giá các yếu tố con đường đông máu nội sinh. Các yếu tố tiếp xúc cũng như số lượng, chất lượng tiểu cầu trong mẫu kiểm tra không ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm.

Kết quả: Trị số bình thường từ 28 đến 35 giây; Chỉ số bệnh/chứng (rAPTT) từ 0,85 đến 1,25. APTT kéo dài khi rAPTT trên 1,25, thường gặp trong giảm đông đường đông máu nội sinh do thiếu hụt yếu tố đông máu (hemophilia A, hemophilia B...) hoặc do chất kháng đông lưu hành...[69], [70].

- *Thời gian prothrombin (Prothrombin time - PT)*

Nguyên lí: Máu chống đông bằng natri citrate sẽ được phát động quá trình đông máu theo con đường ngoại sinh khi phục hồi canxi và có mặt thromboplastin. Dựa vào đặc tính này, người ta khảo sát thời gian đông của

huyết tương sau khi cho thừa thromboplastin canxi để đánh giá các yếu tố đông máu đường ngoại sinh (phức hệ prothrombin: II, V, VII, X).

Kết quả: Kết quả PT có thể biểu thị bằng thời gian (giây) hoặc bằng phần trăm và bằng chỉ số INR (International Normalized Ratio).

Bình thường: thời gian prothrombin trong khoảng từ 11 đến 13 giây, tỷ lệ prothrombin (PT%) từ 70 đến 140%.

PT% giảm khi dưới 70%, giảm nặng khi dưới 40%; Gặp trong các trường hợp suy giảm đường đông máu ngoại sinh, gặp trong suy chức năng gan, thiếu vitamin K, điều trị kháng vitamin K, thiếu các yếu tố II, V, VII, X đơn độc hoặc kết hợp....[69],[70].

- *Thời gian thrombin (Thrombin Time - TT)*

Nguyên lí: Đo thời gian đông của huyết tương khi cho thrombin vào. Xét nghiệm này đánh giá giai đoạn chuyển fibrinogen thành fibrin.

Kết quả: Thời gian thrombin của mẫu kiểm tra bình thường từ 15 đến 18 giây, chỉ số bệnh/chứng (rTT) bình thường từ 0,8 đến 1,25.

TT kéo dài khi rTT trên 1,25, gặp trong các trường hợp thiếu hụt fibrinogen (dưới 1g/l), bất thường về cấu trúc phân tử fibrinogen, có mặt các chất ức chế thrombin (heparin) hoặc chất ức chế trùng phân fibrin [69],[70].

- *Định lượng fibrinogen:* theo phương pháp Clauss

Nguyên lí: Sau khi thêm thrombin vào huyết tương thì huyết tương sẽ bị đông. Thời gian đông phụ thuộc hàm lượng fibrinogen trong huyết tương. Dựa vào đó, người ta cho dư thrombin để đánh giá nồng độ fibrinogen.

Kết quả: Bình thường fibrinogen từ 2 đến 4g/l.

Khi fibrinogen dưới 2 g/l: giảm nhẹ; dưới 1 g/l: giảm nặng; gặp trong các tình trạng bệnh lý như DIC, suy gan nặng...Fibrinogen tăng khi trên 4g/l; gặp trong các tình trạng viêm nhiễm, thai nghén...[69],[70].

- *Kháng đông nội sinh (KĐNS)*

Nguyên lí: Thời gian một xét nghiệm đông máu kéo dài do thiếu hụt một hay nhiều yếu tố đông máu hoặc sự có mặt của chất kháng đông lưu hành. Dựa vào khả năng bù của các yếu tố đông máu để phân biệt nguyên nhân gây giảm đông do thiếu hụt hay do ức chế yếu tố đông máu. Thời gian đông của hỗn hợp một thể tích huyết tương bình thường và một thể tích huyết tương của bệnh nhân thiếu hụt một hay nhiều yếu tố đông máu sẽ gần bằng thời gian đông của huyết tương bình thường. Trái lại, thời gian đông của hỗn hợp một thể tích huyết tương bình thường và của một thể tích huyết tương của bệnh nhân có chất kháng đông lưu hành sẽ kéo dài gần bằng thời gian đông của huyết tương bệnh nhân.

Có thể thực hiện xét nghiệm ngay sau khi chuẩn bị xong các hỗn hợp huyết tương bệnh và huyết tương bình thường để phát hiện các chất kháng đông lưu hành thuộc loại tác dụng ngay, thường ức chế sự hoạt hóa các yếu tố đông máu (kháng yếu tố IX); Hoặc ủ hỗn hợp này 2 giờ ở 37°C để phát hiện chất kháng đông lưu hành thuộc loại tác dụng phụ thuộc thời gian và nhiệt độ, chỉ bắt đầu tác dụng sau một thời gian ủ và thường là các kháng thể IgG (kháng yếu tố VIII).

Kết quả: Chẩn đoán có chất kháng đông lưu hành dựa trên sự chênh lệch giữa thời gian đông của huyết tương bình thường (ống 1) với các hỗn hợp trộn sau đó. Chỉ chẩn đoán là có chất kháng đông lưu hành khi thời gian đông của 2 ống chênh nhau trên 15 giây với APTT [69],[70].

- Định lượng yếu tố VIII/IX

Nguyên lí: Thời gian thromboplastin từng phần hoạt hóa của huyết tương bị thiếu hụt một trong các yếu tố VIII, IX, XI, XII sẽ bị kéo dài. Thời gian này sẽ được điều chỉnh khi bổ sung huyết tương có yếu tố thiếu hụt đó. Mức độ điều chỉnh phụ thuộc nồng độ yếu tố thiếu hụt trong huyết tương. Dựa vào đó, người ta pha loãng huyết tương ra các nồng độ khác nhau và trộn với huyết

tương không có yếu tố cần khảo sát (huyết tương thử) để theo dõi mức độ điều chỉnh và tính ra nồng độ yếu tố đông máu cần định lượng.

Kết quả: Bình thường hoạt tính của các yếu tố VIII/IX dao động từ 50 đến 200%. Nếu giá trị dưới 40% là thiếu hụt bệnh lý [69],[70].

- *Định lượng yếu tố von Willebrand Antigen (vWF:Ag)*

Nguyên lí: Khi huyết tương có chứa vWF được trộn với các hạt latex phản ứng và dung dịch đệm phản ứng có trong bộ kit xét nghiệm thì các hạt latex được hấp phụ với vWF sẽ ngưng kết. Mức độ ngưng kết tỉ lệ thuận với nồng độ vWF của mẫu và được đo bằng sự giảm độ xuyên thấu ánh sáng gây ra do các sản phẩm kết tủa tạo ra.

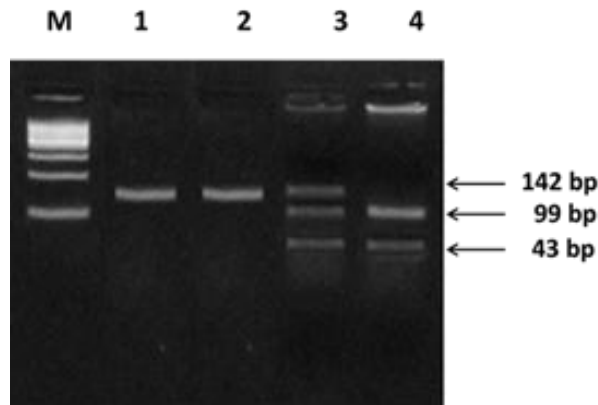
Kết quả: Bình thường nồng độ vWF:Ag là 50 - 150% [70].

d. *Quy trình xét nghiệm phân tích di truyền gen yếu tố VIII*

- *Quy trình phân tích PCR-RFLP với vị trí cắt đặc hiệu của enzym BclI trên intron 18* với mỗi đặc hiệu được thiết kế theo Kogan và cộng sự (1987)[62] . Kỹ thuật được thực hiện tại khoa Di Truyền – Sinh học phân tử viện Huyết học – Truyền máu TW.

+ *Nguyên lí kỹ thuật:*

Tại vị trí cắt của enzyme *BclI* trên intron 18 của gen mã hóa yếu tố VIII có đa hình đơn nucleotide T/A. Để phát hiện đa hình này cần khuếch đại đoạn ADN chứa đa hình có kích thước 142bp, sau đó cắt sản phẩm khuếch đại 142 bp với enzyme *BclI*. Nếu kết quả cắt cho 2 băng 99 bp và 43 bp thì đó là allele T, quy ước là (+). Nếu kết quả cắt chỉ có một băng ADN 142 bp thì đó là allele A, quy ước là (-). Nếu người mẹ mang gen hemophilia A có 2 nhiễm sắc thể X khác nhau về đa hình này, còn gọi là có thông tin (tức là có kiểu gen *BclI +/-*) thì có thể sử dụng đa hình này để đánh dấu nhiễm sắc thể X nào có mang gen bệnh, nhiễm sắc thể X nào bình thường, từ đó kết hợp với kết quả *BclI* của bố sẽ giúp chẩn đoán tình trạng mang bệnh của thai nhi nếu có thai lần tiếp theo và biết được tình trạng mang gen của chị em gái bệnh nhân.



Hình 2.1. Hình ảnh phân tích đa hình *BclI* trên intron 18 bằng phương pháp PCR-RFLP

Chú thích: M: Thang ADN chuẩn 100bp

1: Sản phẩm PCR (142 bp)

2, 3, 4: Sản phẩm sau cắt với enzym *BclI* :

+ 2: Mẫu không cắt với *BclI* (-)

+ 3: Mẫu cắt dị hợp tử *BclI* (+/-)

+ 4: Mẫu cắt đồng hợp tử *BclI* (+/+)

+ Ví dụ: Mẹ mang gen có *BclI* (+/-), con trai bị bệnh có *BclI* (+), bố bình thường có *BclI* (+), chị gái có *BclI* (+/-), thai nhi là trai có *BclI* (+), cần chẩn đoán tình trạng mang gen cho chị gái và chẩn đoán trước sinh hemophilia cho thai nhi.

- Do con trai có 1 nhiễm sắc thể X và nhiễm sắc thể này là của mẹ truyền cho vì vậy nhiễm sắc thể có *BclI* (+) của mẹ là nhiễm sắc thể mang gen hemophilia, nhiễm sắc thể có *BclI* (-) là nhiễm sắc thể bình thường.

- Chị gái có *BclI* (+/-) thì *BclI* (+) là từ bố truyền cho, *BclI* (-) là từ mẹ truyền cho, mà theo phân tích trên, *BclI* (-) nằm trên nhiễm sắc thể bình thường vì vậy chị gái bệnh nhân là người không mang gen bệnh.

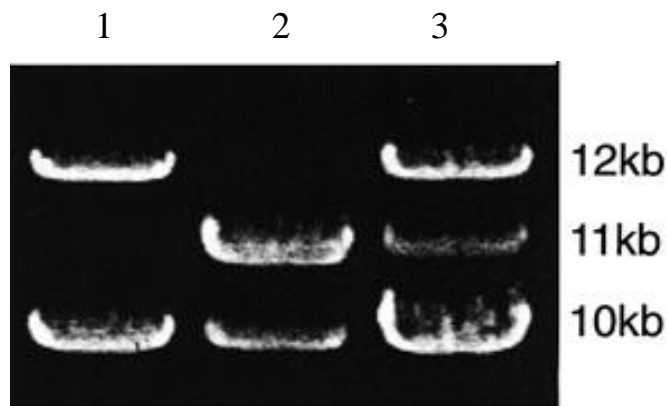
- Thai trai có 1 nhiễm sắc thể X do mẹ truyền cho có *BclI* (+) mà như phân tích ở trên là nhiễm sắc thể mang gen hemophilia, do đó thai nhi bị hemophilia.

- Quy trình xét nghiệm phân tích tìm đảo đoạn intron 22 và intron 1 bằng phương pháp Long-range PCR được thực hiện tại khoa Di Truyền – Sinh học phân tử, Viện Huyết học – Truyền máu TW.

Nguyên lí kĩ thuật:

Đảo đoạn intron 22 và đảo đoạn intron 1 là 2 loại đột biến hay gặp nhất ở bệnh nhân hemophilia A mức độ nặng với tần suất 45 – 50% đối với intron 22 và 1 - 5% đối với intron 1.

Đảo đoạn intron 22 xuất hiện do sự tái tổ hợp giữa vùng 5' của gen yếu tố VIII (int22h1) với vùng lặp lại (vùng tương đồng) ở phần cuối cùng trên cánh dài của NST X (int22h2 (proximal) hoặc int22h3 (distal)). Kỹ thuật Long-range PCR với sự kết hợp của hai loại enzym: enzym đọc sửa và enzym có hoạt tính tổng hợp đoạn ADN lớn cho phép khuếch đại các vùng ADN tái tổ hợp này tạo ra sản phẩm PCR có kích thước 10 - 12kb. Sản phẩm PCR này được phát hiện khi điện di trên agarose và đọc trên hệ thống đọc gel.



Hình 2.2. Hình ảnh điện di phát hiện đảo đoạn intron 22 bằng phương pháp Long-range PCR

Chú thích:

- 1: Nam giới không có đảo đoạn intron 22: sản phẩm Long-range PCR có 2 băng là 12 kb và 10 kb.
- 2: Nam giới có đảo đoạn intron 22: sản phẩm Long-range PCR có 2 băng là 11 kb và 10 kb.
- 3: Nữ giới dị hợp tử: sản phẩm Long-range PCR có 3 băng là 12 kb, 11 kb và 10 kb.

Đảo đoạn intron 1 xuất hiện do sự tái tổ hợp giữa trình tự trong intron 1 (int-h1) với trình tự tương đồng (int-h2) của nó ở vùng telome của nhiễm sắc thể X. Sử dụng kỹ thuật Long-range PCR với sự phối hợp của hai cặp mồi đặc hiệu cho vùng int-h1 và int-h2 sẽ cho phép phát hiện được có hiện tượng đảo đoạn intron 1 hay không khi quan sát hình ảnh điện di sản phẩm PCR trên gel agarose 1%.

- Quy trình xét nghiệm giải trình tự tìm đột biến gen yếu tố VIII được tiến hành tại Trung tâm nghiên cứu Gen - Protein trường đại học Y Hà Nội. 26 exon của gen F8 được giải trình tự với 38 cặp mồi theo quy trình và sử dụng phương pháp BigDye terminator sequencing (Applied Biosystems, Foster city, USA).

+ Các bước thực hiện

- . Khuếch đại các exon bằng kỹ thuật PCR với những cặp mồi tương ứng.
- . Chạy PCR sequencing bằng cặp mồi xuôi và ngược.
- . Giải trình tự trên máy ABI sequencer.
- . So sánh kết quả thu được với trình tự gen F8 trên Genbank (NG_011403) [65].

+ Phân tích kết quả

So sánh trình tự gen của bệnh nhân với trình tự gen chuẩn của Gene Bank (National center for biotechnology information, NCBI) NG_011403 bằng phần mềm CLC.

So sánh trình tự các acid amin của bệnh nhân với trình tự acid amin chuẩn của Genebank NP_000123.1 bằng phần mềm Blast của NCBI. Trong đó alanine là acid amin đầu tiên của protein F8 trưởng thành được đánh số 01. 19 acid amin trước đó bắt đầu từ methionin bị loại bỏ trong quá trình hoàn thiện protein F8 không được đánh số.

Khi phát hiện vị trí nghi ngờ đột biến, tìm các vị trí đột biến tương ứng

trên cơ sở dữ liệu Hamster và CDC. Nếu đột biến đã công bố thì khẳng định bệnh nhân có đột biến gây bệnh. Trường hợp đột biến ở bệnh nhân chưa thấy công bố thì phân tích tiếp khả năng gây bệnh dựa trên phần mềm cấu trúc không gian 3D DNASTAR.

2.4. Phương pháp xử lý và phân tích số liệu

Số liệu được làm sạch và xử lý theo phương pháp thống kê y học trên chương trình SPSS 20v.

2.4.1. Mô tả kết quả

- Các biến số định lượng được trình bày theo giá trị trung bình và độ lệch chuẩn ($X \pm SD$).
- Các biến số định tính được trình bày theo tỉ lệ %.

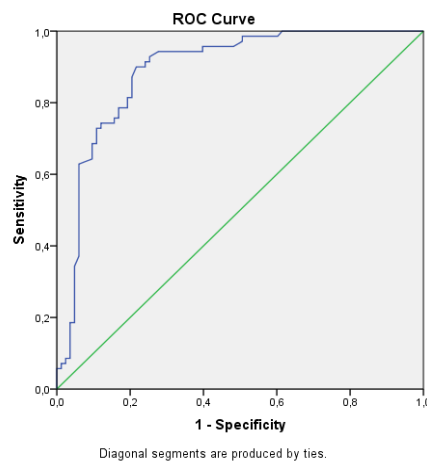
2.4.2. Đánh giá sự khác biệt

- Đối với biến định tính sử dụng test χ^2 . Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.
- Đối với các biến định lượng sử dụng test t-student. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.
- Đánh giá yếu tố nguy cơ sử dụng tỉ suất chênh OR, khoảng tin cậy 95%CI.
- Đối với các biến định lượng sử dụng test Kruskal-Wallis kiểm định so sánh 2 giá trị trung vị khi các biến không theo phân phối chuẩn. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.
- Đối với các biến định lượng sử dụng test One-way ANOVA kiểm định 3 giá trị trung bình. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

2.4.3. Tính giá trị chẩn đoán tình trạng mang gen của tỉ số VIII/vWF:Ag bằng cách phân tích đường cong ROC

ROC (Receiver Operating Characteristic hay Receiver Operating Curve) là một đồ thị có trục tung là tỉ lệ dương tính thật (độ nhạy) và trục hoành là tỉ

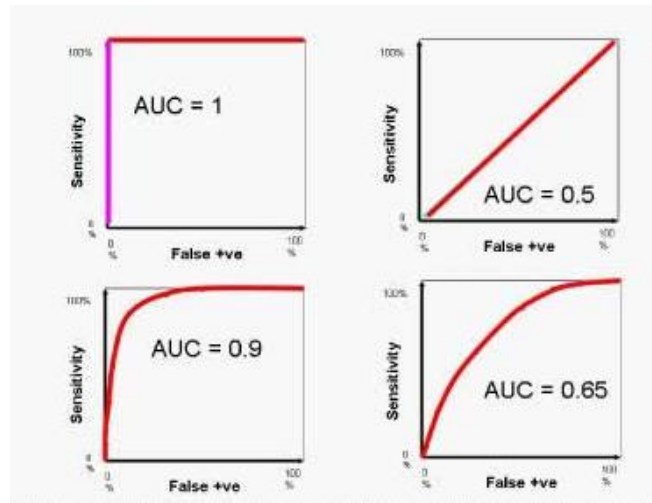
lệ dương tính giả (1- độ đặc hiệu) cho một hệ thống phân loại nhị phân mà ngưỡng phân loại của nó bị thay đổi. Cả hai tỉ lệ có giá trị dao động từ 0 đến 100 (hay từ 0 đến 1, nếu dùng xác suất). Hai tỉ lệ này được ước tính cho từng giá trị tham chiếu. Phương pháp xét nghiệm tốt sẽ có những điểm tham chiếu tập trung vào khu vực “Tây Bắc”, tức là những điểm ở góc trái thuộc phía trên của biểu đồ. Những điểm này cho biết đó là những giá trị tham chiếu có độ nhạy cao và độ dương tính giả thấp. Ở đây có hai chỉ số (độ dương tính giả và độ nhạy), và chúng biến thiên ngược chiều nhau. Do đó, cần một “chỉ số dung hòa” cả hai chỉ số này chính là độ chính xác được đo lường bằng diện tích dưới đường biểu diễn ROC (còn gọi là area under the curve - AUC) được tính bằng phương pháp tích phân hoặc bằng phần mềm SPSS. AUC được giải nghĩa qua ví dụ sau: nếu chọn một cặp đối tượng (chọn một cách ngẫu nhiên từ một quần thể), một người có bệnh và một người không có bệnh. Nếu cả hai người đều được xét nghiệm bằng một phương pháp có $AUC = 0.85$, thì điều này có nghĩa là xác suất mà người có bệnh có kết quả xét nghiệm với giá trị cao hơn người không mắc bệnh là 85%.



Biểu đồ 2.1: Đường cong ROC của một chỉ số nghiên cứu

Quan sát đường cong trên cho thấy diện tích dưới đường cong lớn nhất là

1 (vì là hình vuông, mỗi cạnh là 1). Nếu phương pháp xét nghiệm vô dụng thì tất cả các điểm tham chiếu đều nằm trên đường thẳng nối hai điểm (0, 0) và (1, 1), tức đường 45 độ. Trong trường hợp này, diện tích dưới đường biểu diễn ROC bằng 0,5 (biểu đồ 2.2).



Biểu đồ 2.2. Diện tích dưới đường biểu diễn (AUC) của biểu đồ ROC.

AUC tối đa là 1, tối thiểu là 0,5. AUC = 0,9 được xem là rất tốt,

AUC = 0,65 được xem là không tốt.

Không có ngưỡng nào của AUC để xác định là một xét nghiệm tuyệt vời. Tuy nhiên theo qui ước thì một phương pháp xét nghiệm với AUC trên 0,8 được xem là tốt hay rất tốt; còn AUC dưới 0,6 được xem là không tốt và không thể áp dụng vào lâm sàng được.

Bảng 2.2. Diễn giải ý nghĩa của diện tích dưới đường biểu diễn ROC (AUC)

AUC	Ý nghĩa
> 0,90	Rất tốt
0,80 đến 0,90	Tốt
0,70 đến 0,80	Trung bình
0,60 đến 0,70	Không tốt
0,50 đến 0,60	Vô dụng

Trong các test chẩn đoán bệnh, đường cong ROC được dùng để tìm điểm

cắt (cut off) của các biến định lượng có giá trị phân biệt 2 trạng thái (ví dụ: bệnh/không bệnh) tốt nhất, có nghĩa là tìm ngưỡng có độ nhạy và độ đặc hiệu cao nhất. Sử dụng chương trình SPSS sẽ cho bảng số liệu Tọa độ của đường cong (Coordinates of the curve) giúp xác định điểm cắt. Dùng chỉ số Youden J để xác định giá trị nào của xét nghiệm cho độ nhạy và độ đặc hiệu cao nhất. Chỉ số J là trị số cao nhất của tổng độ nhạy và đặc hiệu trừ đi 1 (dao động từ 0 – 1).

$$J = \max (Se+Sp-1)$$

với Se (Sensitivity) là độ nhạy và Sp (specificity) là độ đặc hiệu [71],[72],[73].

2.5. Đạo đức trong nghiên cứu

- Được sự đồng ý của người tham gia nghiên cứu hoặc của người giám hộ hợp pháp đối với người tham gia nghiên cứu < 18 tuổi.
- Mọi thông tin thu thập được đảm bảo bí mật, chỉ thông báo cho đối tượng nghiên cứu, chỉ phục vụ mục đích nghiên cứu và điều trị.
- Nghiên cứu được sự đồng ý và phê duyệt của Hội đồng khoa học, hội đồng đạo đức viện Huyết học – Truyền máu TW, Trung tâm Hemophilia.
- Kết quả nghiên cứu được phản hồi lại cho Viện Huyết học – Truyền máu TW, trung tâm Hemophilia.
- Từ kết quả nghiên cứu, lựa chọn một số thông tin cần thiết và có ích cho việc điều trị và tư vấn cho người tham gia nghiên cứu.

2.6. Thời gian nghiên cứu

- Hồi cứu: Từ 2005 – 2011
- Tiến cứu: Từ 2011 – 2016

2.7. Địa điểm nghiên cứu

- Tại nhà bệnh nhân;
- Tại bệnh viện:
 - + Trung tâm Hemophilia, các phòng xét nghiệm Viện Huyết học – Truyền máu TW.
 - + Trung tâm nghiên cứu Gen – Protein, Trường đại học Y Hà Nội.

Chương 3

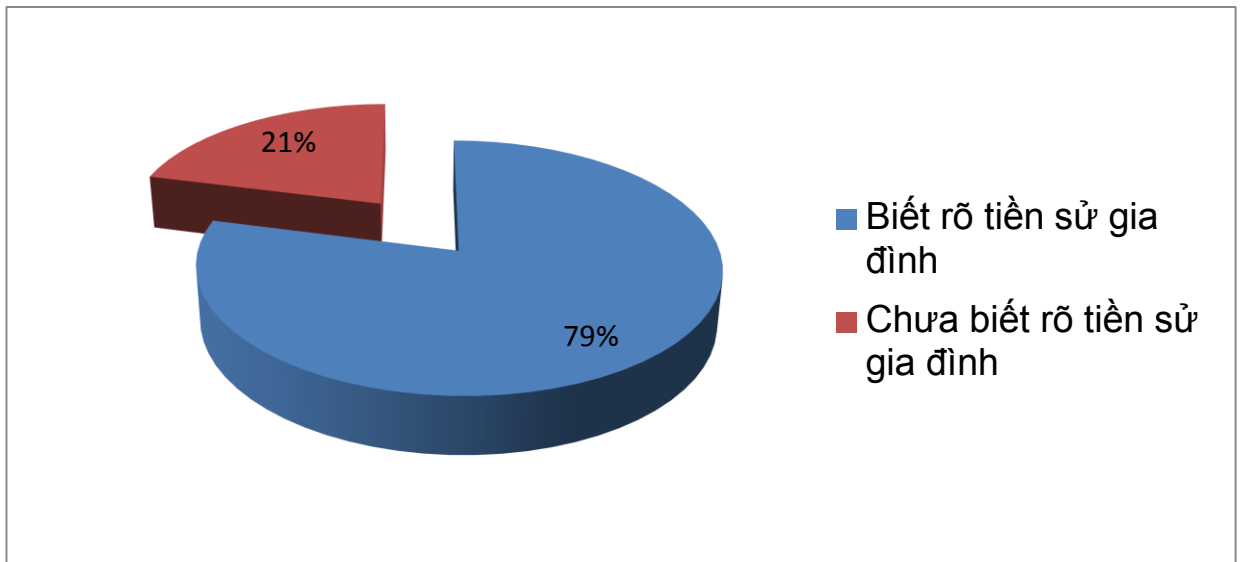
KẾT QUẢ

3.1. Một số đặc điểm của bệnh nhân gốc

3.1.1. Số lượng, giới, tuổi

100 bệnh nhân gốc đều là nam giới, tuổi trung bình là $19,9 \pm 15,9$ tuổi, nhỏ nhất là 1 tuổi, lớn nhất là 61 tuổi.

3.1.2. Phân bố bệnh nhân gốc theo tiền sử chảy máu trong gia đình

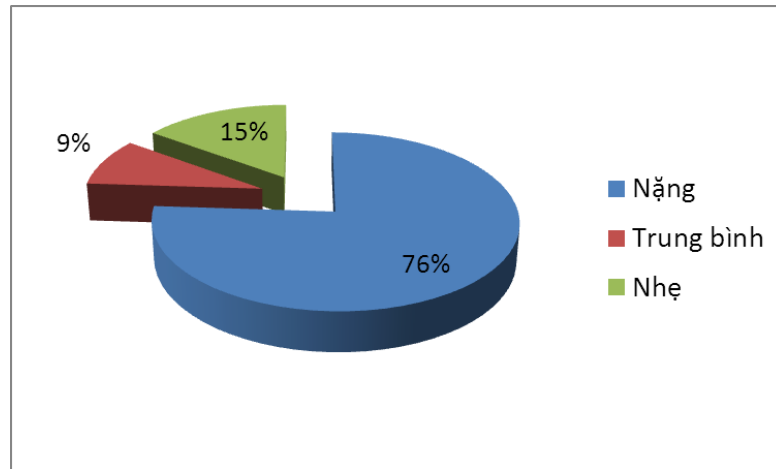


Biểu đồ 3.1. Phân bố bệnh nhân gốc theo tiền sử chảy máu trong gia đình

Nhận xét:

Phần lớn bệnh nhân gốc trong nghiên cứu có tiền sử gia đình về chảy máu bất thường, chiếm tỉ lệ 79%. Số bệnh nhân không có tiền sử gia đình chiếm tỉ lệ 21%.

3.1.3. Mức độ bệnh và tổn thương di truyền của bệnh nhân gốc



Biểu đồ 3.2. Mức độ bệnh của bệnh nhân gốc

Nhận xét:

- Phần lớn bệnh nhân gốc trong nghiên cứu là mức độ nặng, chiếm tỉ lệ 76%.
- Bệnh nhân mức độ trung bình và nhẹ chiếm tỉ lệ thấp hơn, lần lượt là 9% và 15%.

Bảng 3.1. Tổn thương di truyền của bệnh nhân gốc

		n	%		
Đảo đoạn intron 1 (n = 76)		23	30,3		
Đảo đoạn intron 22 (n = 76)		1	1,3		
Giải trình tự gen (n = 9)	Có phát hiện đột biến	Đột biến điểm		7	77,8
		Đột biến mất đoạn		1	11,1
	Không phát hiện được đột biến				1

Nhận xét:

- 23/76 bệnh nhân mức độ nặng có đảo đoạn intron 22, chiếm tỉ lệ 30,3%;
- 1/76 bệnh nhân mức độ nặng có đảo đoạn intron 1 chiếm tỉ lệ 1,3%;

- 9 người bao gồm 6 bệnh nhân mức độ nặng không có đảo đoạn intron 22 và intron 1, 2 bệnh nhân mức độ nhẹ và 1 bệnh nhân mức độ trung bình được giải trình tự gen trong đó 8 người tìm được đột biến chiếm tỉ lệ 88,9% (7 người có đột biến điểm và 1 người có đột biến mất đoạn). 1 người (chiếm tỉ lệ 11,1%) chưa phát hiện được đột biến là bệnh nhân mức độ nhẹ.

3.2. Phát hiện bệnh nhân mới và người mang gen bệnh

Từ 100 bệnh nhân gốc đã lập ra được 100 phả hệ của 100 gia đình đồng thời đã tổ chức khám bệnh và lấy mẫu tại nhà cho 9 gia đình bệnh nhân.

Bảng 3.2. Số lượng thế hệ khai thác được thông tin

	3 thế hệ	4 thế hệ	5 thế hệ	6 thế hệ	7 thế hệ	X ± SD
Số lượng (n = 100)	30	58	11	0	1	3,8 ± 0,7
%	30	58	11	0	1	

Nhận xét:

Trung bình các gia đình khai thác được thông tin được 3,8 thế hệ, dao động từ 3 - 7 thế hệ. Trong đó:

- Phần lớn (58%) các gia đình khai thác thông tin được trong vòng 4 thế hệ.
- Có 30% gia đình khai thác thông tin được trong vòng 3 thế hệ.
- Số gia đình khai thác được thông tin từ 5 thế hệ trở lên chiếm tỉ lệ thấp.

Bảng 3.3. Số người có liên quan đến hemophilia trong các gia đình

Tình trạng	Đối tượng	Nam		Nữ		Tổng số
		n	%	n	%	
Có khả năng bị bệnh (nam)/ mang gen (nữ)		869	73,8	1129	96,8	2343
	Không có khả năng bị bệnh (nam)/mang gen (nữ)	308	26,2	37	3,2	
Tổng số		1177	100	1166	100	

Nhận xét:

Người có liên quan đến hemophilia là người có khả năng bị bệnh đối với nam và có khả năng mang gen hoặc chắc chắn mang gen đối với nữ.

- Phân tích phả hệ xác định được 2343 thành viên có quan hệ huyết thống bên mẹ với bệnh nhân trong đó có 1177 nam giới và 1166 nữ giới chiếm tỉ lệ tương đương nhau là 1:1.
- Trong số nam giới có quan hệ huyết thống xác định được 869 nam chiếm tỉ lệ 73,8% có khả năng bị bệnh.
- Trong số nữ có quan hệ huyết thống xác định được 1129 người có liên quan đến hemophilia chiếm tỉ lệ 96,8%.

Bảng 3.4. Phân bố người liên quan đến hemophilia theo phả hệ

	n	Tỉ lệ (%)	X ± SD	Min - max
Nam (Có khả năng bị bệnh)	869	43,5	8,7 ± 5,9	1 - 32
Nữ (Có khả năng mang gen)	1129	56,5	11,3 ± 8,0	3 - 51
Tổng số	1998	100	20,0 ± 13,5	4 - 80

Nhận xét:

- Trung bình mỗi gia đình có $8,7 \pm 5,9$ người nam giới có liên quan đến hemophilia, dao động từ 1 - 32 người.
- Trung bình mỗi gia đình có $11,3 \pm 8,0$ người nữ giới có liên quan đến hemophilia, dao động từ 3 - 51 người.

3.2.1. Phát hiện bệnh nhân mới

Trong số nam giới có khả năng mắc bệnh chúng tôi xác định những người nghi ngờ bị bệnh là những người có biểu hiện chảy máu bất thường và những người không có triệu chứng chảy máu bất thường là thành viên trong gia đình bệnh nhân mức độ nhẹ.

Bảng 3.5. Kết quả phát hiện nam giới nghi ngờ bị hemophilia qua sàng lọc bằng bảng hỏi

Chảy máu bất thường	Còn sống		Đã tử vong		Tổng số		% theo tổng số nam có liên quan (n = 869)
	n	%	n	%	n	%	
Có	166	68,6	76	31,4	242	69,7	27,8
Không (thuộc gia đình mức độ nhẹ)	105	100	0	0	105	30,3	12,1
Tổng số	271	78,1	76	21,9	347	100	39,9

Nhận xét

Qua phân tích phả hệ và sàng lọc bằng bảng hỏi (trực tiếp và gián tiếp) cho 869 nam có liên quan xác định được 347 người chiếm tỉ lệ 39,9% nghi ngờ bị hemophilia trong đó 242 người có biểu hiện chảy máu bất thường chiếm tỉ lệ 27,8% và 105 người không có biểu hiện chảy máu bất thường thuộc gia đình bệnh nhân mức độ nhẹ chiếm tỉ lệ 12,1%. Trong số những người có biểu hiện chảy máu bất thường có 76 người đã tử vong. Số người nghi ngờ bị hemophilia còn sống là 271 người.

Bảng 3.6. Tỉ lệ người nghi ngờ bị bệnh được làm xét nghiệm chẩn đoán bằng định lượng yếu tố đông máu

Đối tượng	Được làm xét nghiệm		Chưa được làm xét nghiệm		Tổng số		p
	n	%	n	%	n	%	
Người có biểu hiện chảy máu bất thường	145	87,3	21	12,7	166	100	p < 0,05
Người không có biểu hiện chảy máu bất thường thuộc gia đình bệnh nhân mức độ nhẹ	54	51,4	51	48,6	105	100	
Tổng số	199	73,4	72	26,6	271	100	
% theo tổng nam giới có liên quan (n = 869)	22,9		8,3				

Nhận xét:

- Có 199 người nghi ngờ bị bệnh (chiếm tỉ lệ 73,4% số người nghi ngờ bị bệnh và 22,9% tổng số người liên quan) được làm xét nghiệm chẩn đoán trong đó có 145 người có biểu hiện chảy máu bất thường và 54 người không có biểu hiện chảy máu bất thường thuộc gia đình mức độ nhẹ.
- Tỉ lệ được làm xét nghiệm ở nhóm người có chảy máu bất thường là 87,3% cao hơn có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ so với nhóm không chảy máu bất thường (51,4%).
- 72 người còn lại không có mặt để lấy máu làm xét nghiệm do đi làm ăn xa hoặc chưa sắp xếp được thời gian đến lấy mẫu.

Bảng 3.7. Kết quả xét nghiệm chẩn đoán của những người nghi ngờ bị bệnh

	Bị bệnh		Không bị bệnh		Tổng số	
	n	%	n	%	n	%
Có chảy máu bất thường	145	100	0	0	145	100
Không chảy máu bất thường	2	3,7	52	96,3	54	100
Tổng số	147	73,9	52	26,1	199	100
Tỉ lệ (trên tổng số nam có khả năng bị bệnh) (n = 869)	16,9		5,9		22,9	

Nhận xét:

- Tất cả những người có biểu hiện chảy máu bất thường đều có kết quả xét nghiệm khẳng định bị bệnh. Chỉ có hai người không có biểu hiện chảy máu bất thường được khẳng định bị bệnh qua xét nghiệm, chiếm tỉ lệ 3,7%.
- Tổng số bệnh nhân mới được chẩn đoán là 147 người chiếm tỉ lệ 16,9% nam giới có liên quan.

Bảng 3.8. Đặc điểm của những người có biểu hiện chảy máu bất thường đã tử vong

Mức độ của bệnh nhân gốc	Số lượng (%) (người)	Trung vị tuổi thọ (Min – max) (tuổi)	p	Thời điểm tử vong	
				Trước khi được chẩn đoán	Sau khi được chẩn đoán
Nặng⁽¹⁾	59 (77,6%)	11,0 1,5 - 60	$p_{(1)(2)} > 0,05$ $p_{(1)(3)} < 0,05$ $p_{(2)(3)} < 0,05$	51 (86,4%)	8 (13,6%)
Trung bình⁽²⁾	8 (10,5%)	7 0,5 - 51		7 (87,5%)	1 (12,5%)
Nhẹ⁽³⁾	9 (11,9%)	39 3 - 66		9 (100%)	0 (0%)
Tổng số	76 (100%)	12,5 0,5 - 66		67 (88,2%)	9 (11,8%)

Nhận xét:

- Đa số những người có biểu hiện chảy máu bất thường đã tử vong thuộc gia đình mức độ nặng (77,6%) và tử vong trước khi được chẩn đoán, trung vị tuổi thọ 12,5 tuổi, dao động từ 6 tháng đến 66 tuổi.

- Tuổi thọ trung vị giữa các mức độ bệnh của những người có chảy máu bất thường có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- Những người thuộc gia đình mức độ nặng và trung bình tử vong sớm hơn những người thuộc gia đình mức độ nhẹ, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Bảng 3.9. Nguyên nhân tử vong của các thành viên có biểu hiện chảy máu bất thường

Nguyên nhân tử vong		n		%	
Chảy máu	Chấn thương, tai nạn	63	16	82,9	25,4
	Xuất huyết tiêu hóa		13		20,6
	Xuất huyết não		13		20,6
	Chảy máu răng miệng		6		9,5
	Cơ		4		6,3
	Khác		11		17,5
Không do chảy máu		5		6,6	
Không rõ		8		10,5	
Tổng số		76		100	

Nhận xét:

- Phần lớn những người có biểu hiện chảy máu bất thường bị tử vong là do chảy máu (82,9%) trong đó hay gặp nhất là do chảy máu sau chấn thương/tai nạn, xuất huyết não và xuất huyết tiêu hóa (lần lượt là 25,4%, 20,6%, 20,6%).

- Có 6 người chiếm tỉ lệ 9,5% tử vong do chảy máu răng miệng.

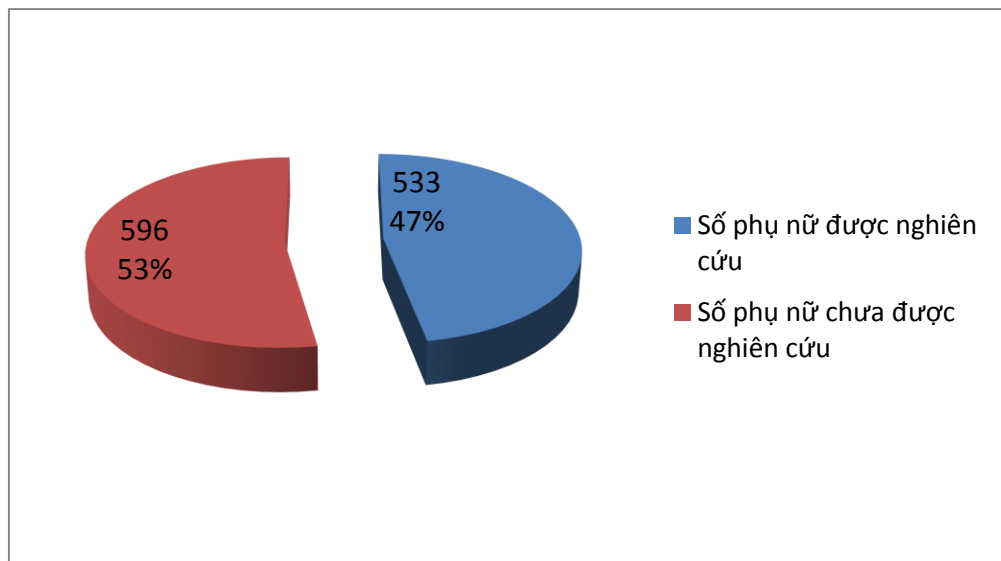
- Tỉ lệ người tử vong vì chảy máu cơ là 6,3%.

Bảng 3.10. Quan hệ của bệnh nhân mới được chẩn đoán với bệnh nhân gốc

	Số lượng (n = 147)	%
Cùng thế hệ (anh em ruột, anh em con dì già)	51	34,69
Sau 1 thế hệ (cháu gọi bằng cậu)	48	32,65
Sau 2 thế hệ (cháu gọi bằng ông)	16	10,88
Sau 3 thế hệ (chắt gọi bằng cụ)	1	0,68
Trước 1 thế hệ (cậu, bác)	18	12,24
Trước 2 thế hệ (ông)	13	8,86

Nhận xét:

- Phần lớn bệnh nhân mới được phát hiện cùng thế hệ và sau 1 thế hệ với bệnh nhân gốc.
- Số bệnh nhân mới sau 2 thế hệ với bệnh nhân gốc chiếm tỉ lệ tương đương với số bệnh nhân mới trước 1 thế hệ.
- Có 8,7% bệnh nhân mới là thế hệ ông của bệnh nhân gốc.
- Chỉ có 1 bệnh nhân mới duy nhất gọi bệnh nhân gốc là cụ.

3.2.2. Phát hiện người mang gen bệnh**3.2.2.1. Phát hiện người mang gen bệnh dựa vào phân tích phả hệ***Biểu đồ 3.3. Số phụ nữ được nghiên cứu tình trạng mang gen**Nhận xét:*

Trong số 1129 thành viên nữ có liên quan đến hemophilia có 533 người được nghiên cứu do có thể khai thác được thông tin, chiếm 47%.

Bảng 3.11. Kết quả phát hiện người chắc chắn mang gen qua phân tích phả hệ

			n		%
Con của bố bị hemophilia	Tổng số	Đã có con	113	61	34,3
		Chưa có con		52	
Có ít nhất 2 con trai bị bệnh			49		14,9
Có 1 con và 1 thành viên khác trong gia đình bị bệnh			156		47,4
Có 1 con bị bệnh và ít nhất 1 thành viên trong gia đình là người mang gen			11		3,3
Tổng số			329		100

Nhận xét:

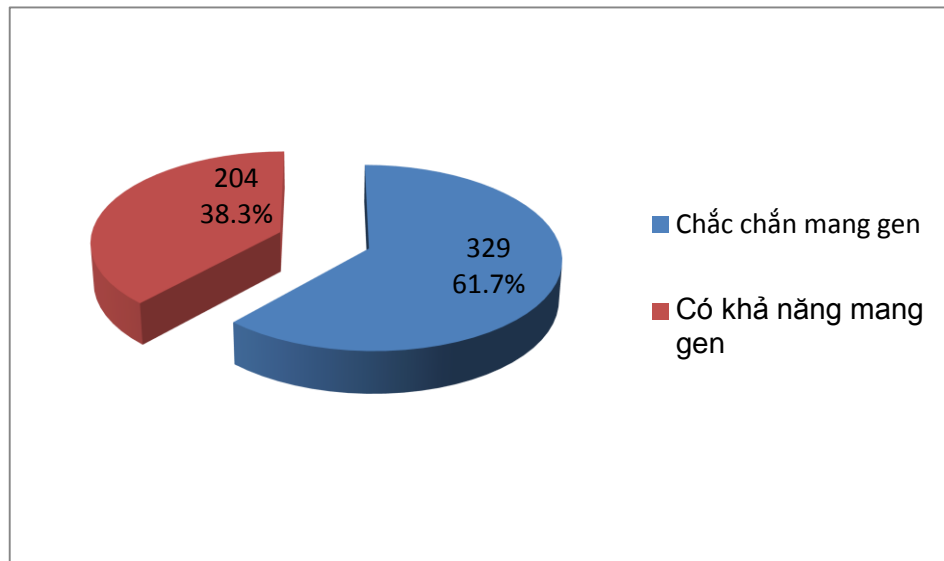
Có 329 người nữ chắc chắn mang gen phát hiện được bằng phân tích phả hệ trong đó hay gặp nhất là những người có một con trai và một thành viên khác trong gia đình bị hemophilia (47,4%), tiếp đến là những người có bố bị hemophilia (34,3%). Có 14,9% người có từ hai con trở lên bị bệnh và chỉ có 3,3% người thỏa mãn điều kiện có một con bị bệnh và có ít nhất một người trong gia đình được chẩn đoán mang gen. Trong số này có 52 người chưa có con.

Bảng 3.12. Kết quả phát hiện người có khả năng mang gen qua phân tích phả hệ

	n	%
Có 1 con bị bệnh	21	10,3
Có ít nhất 1 thành viên trong gia đình bị bệnh	183	89,7
Là con của một người mang gen bệnh	0	0
Tổng số		100

Nhận xét:

Có 204 người có khả năng mang gen hemophilia phát hiện được bằng phân tích phả hệ trong đó đa số là người có thành viên trong gia đình bị hemophilia (89,7%), chỉ có 21 người chiếm tỉ lệ 10,3% có 1 con bị hemophilia. Không có thành viên nào chỉ thỏa mãn điều kiện là con của một người mẹ mang gen bệnh.



Biểu đồ 3.4. Tỷ lệ phát hiện người mang gen bằng phân tích phả hệ

Nhận xét:

Trong số 533 người phụ nữ có liên quan xác định được 329 người chắc chắn mang gen chiếm tỉ lệ 61,7% và 204 người có khả năng mang gen chiếm tỉ lệ 37,3%.

Bảng 3.13. Tỷ lệ phát hiện người mang gen theo mức độ bệnh của bệnh nhân gốc

Mức độ của bệnh nhân gốc	Số lượng người mang gen được phát hiện	Số lượng người mang gen được phát hiện mỗi phả hệ	
		X ± SD	Min - max
Nặng ⁽¹⁾ (n = 76)	183	2,4 ± 2,1	0 - 8
Trung bình ⁽²⁾ (n = 9)	42	4,7 ± 1,7	1 - 7
Nhẹ ⁽³⁾ (n = 15)	104	6,9 ± 6,0	1 - 22
Tổng số (n = 100)	329	3,3 ± 3,4	0 - 22
p	$P_{(1)(2)} < 0,05$ $P_{(1)(3)} < 0,01$ $P_{(2)(3)} > 0,05$		

Nhận xét:

Bằng phân tích phả hệ phát hiện được trung bình mỗi gia đình có 3,3 người chắc chắn mang gen, dao động từ 0 đến 22 người, trong đó gia đình bệnh nhân mức độ nặng có ít người mang gen được phát hiện hơn gia đình bệnh nhân mức độ trung bình và mức độ nhẹ, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Bảng 3.14. Quan hệ của người mang gen với bệnh nhân gốc

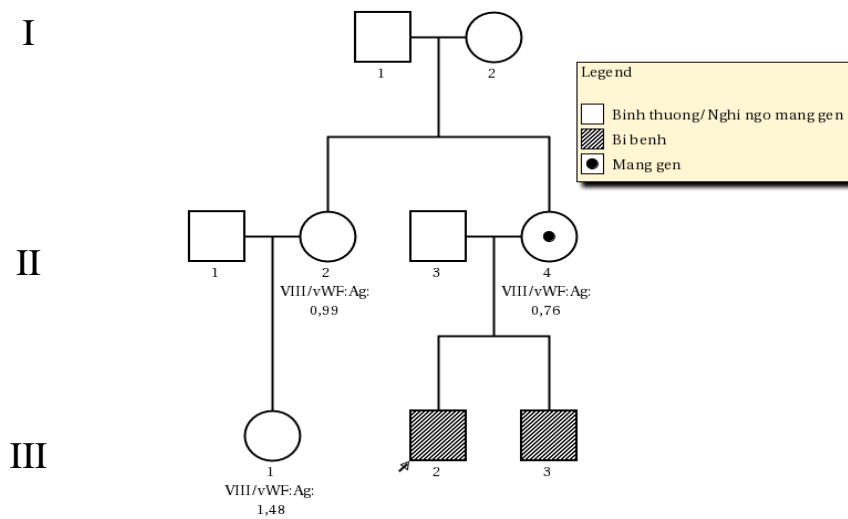
	Số lượng (n = 329)	%
Cùng thế hệ (chị em ruột, chị em họ)	73	22,2
Sau 1 thế hệ (cháu gọi là cậu, bác)	69	21
Sau 2 thế hệ (cháu gọi là ông)	3	0,9
Sau 3 thế hệ (chắt gọi là cụ)	1	0,3
Trước 1 thế hệ (mẹ, dì, già)	129	39,2
Trước 2 thế hệ (bà)	47	14,3
Trước 3 thế hệ (cụ)	7	2,1
Tổng số	329	100

Nhận xét:

- Những người mang gen được phát hiện bằng phương pháp phả hệ thuộc nhiều thế hệ trong gia đình, tuy nhiên hay gặp nhất là trước 1 thế hệ (mẹ, dì, già..), cùng thế hệ (chị em ruột, chị em họ) và sau 1 thế hệ với bệnh nhân (cháu gọi là cậu), lần lượt với tỉ lệ là 39,2; 22,2 và 21%.

- Có 47 người chiếm tỉ lệ 14,3% thuộc thế hệ bà của bệnh nhân gốc.

- Tỉ lệ người mang gen là cụ của bệnh nhân gốc chiếm tỉ lệ thấp là 2,1%.



Sơ đồ 3.1 Phả hệ gia đình bệnh nhân Nguyễn Quang M. (số 26)

Nhận xét:

- Bệnh nhân gốc Nguyễn Minh Q. (III:3) bị hemophilia mức độ nặng. Phân tích phả hệ xác định các thành viên có liên quan đến hemophilia bao gồm:

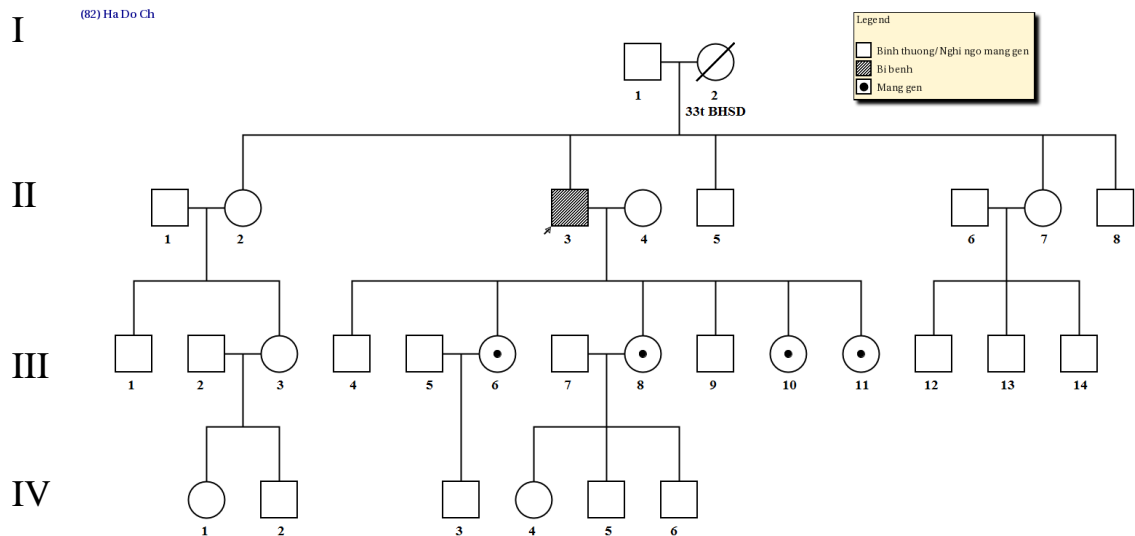
+ Nam có khả năng mắc bệnh: I:1 và III:3;

+ Nữ có liên quan đến hemophilia: I:2, II:2, II:4, III:1.

- Qua phỏng vấn phát hiện em trai bệnh nhân là III:3 có biểu hiện chảy máu lâu cầm, làm xét nghiệm cho thấy III:3 bị hemophilia A.

- Mẹ bệnh nhân II:4 có 2 con bị hemophilia A vì vậy là người chắc chắn mang gen hemophilia A.

- Các thành viên nữ khác trong gia đình bao gồm I:2, II:2, III:1 là người có khả năng mang gen hemophilia do trong gia đình có người bị bệnh đồng thời chưa có con bị hemophilia.



Sơ đồ 3.2. Phả hệ gia đình bệnh nhân Hà Đỗ C. (số 82)

Nhận xét:

- Bệnh nhân gốc Hà Đỗ C. bị hemophilia A mức độ nhẹ. Phân tích phả hệ phát hiện các thành viên liên quan đến hemophilia bao gồm:

+ Nam có khả năng mắc bệnh: II:5, II:8; III:1, III:12, III:13, III:14; IV:2, IV:3, IV:5, IV:6.

+ Nữ có liên quan đến hemophilia: I:2, II:2, II:7, III:3, III:6, III:8, III:10, III:11, IV:1, IV:4.

- Qua phỏng vấn không phát hiện được người nam nào khác có biểu hiện chảy máu. IV:3, IV:5, IV:6 là cháu ngoại của bệnh nhân được làm xét nghiệm kiểm tra, kết quả là cả 3 không bị bệnh. Những người khác chưa lấy được mẫu để xét nghiệm.

- Các thành viên III:6, III:8, III:10, III:11 là người chắc chắn mang gen do là con gái của bệnh nhân.

- Các thành viên I:2, II:2, II:7, III:3, IV:1, IV:4 là người có khả năng mang gen do là mẹ (II:2), chị em gái (II:2, II:7), cháu ngoại (IV:1, IV:4) và cháu gọi bằng cậu (III:3) của bệnh nhân.

3.2.2.2. Phối hợp các phương pháp phát hiện người mang gen ở người có khả năng mang gen

a. Phân tích di truyền

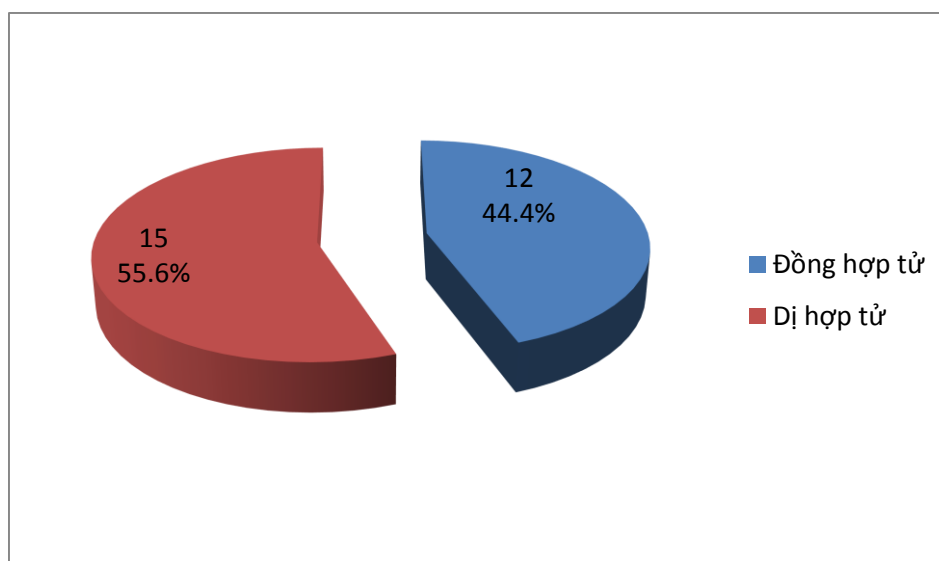
Trong số 204 người có khả năng mang gen vừa được phát hiện qua phân tích phả hệ có 71 người là thành viên trong các gia đình đã xác định được đột biến gen *F8* và 17 người thuộc 15 gia đình thỏa mãn điều kiện (có mẹ mang gen dị hợp tử với *BclI* và có đầy đủ mẫu máu của các thành viên trong gia đình) được xác định tình trạng mang gen bằng phân tích PCR-RFLP với *BclI*, kết quả thể hiện ở bảng 3.15, biểu đồ 3.4 và bảng 3.16.

Bảng 3.15. Kết quả chẩn đoán tình trạng mang gen bằng phân tích trực tiếp đột biến gen F8

	Đào đoạn intron 1	Đào đoạn intron 22	Đột biến điểm	Đột biến mất đoạn	Tổng số	
					n	%
Có mang gen	0	24	5	1	30	42,3
Không mang gen	0	24	17	0	41	57,7
Tổng số	0	48	22	1	71	100

Nhận xét:

Trong số 71 người được xác định tình trạng mang gen bằng phân tích trực tiếp đột biến gen *F8* có 30 người chiếm tỉ lệ 42,3% được khẳng định mang gen và 41 người không mang gen chiếm tỉ lệ 57,7%.



*Biểu đồ 3.5. Tỉ lệ dị hợp tử với *BclI* của người mẹ mang gen*

Nhận xét

Có 27 người mẹ mang gen được phân tích PCR-RFLP với *BclI* trong đó có 15 người chiếm tỉ lệ 55,6% dị hợp tử với *BclI*. 15 người này và các thành viên liên quan trong gia đình được áp dụng phân tích PCR-RFLP với *BclI* để xác định tình trạng mang gen của con gái họ.

Bảng 3.16. Kết quả phân tích PCR-RFLP

Phả hệ số	Mẹ (mang gen)	Bố (bình thường)	Con trai bị bệnh	Con gái 1		Con gái 2	
	<i>BclI</i>	<i>BclI</i>	<i>BclI</i>	<i>BclI</i>	Tình trạng mang gen	<i>BclI</i>	Tình trạng mang gen
2	+/-	+	+	+/+	Có		
10	+/-	+	+	+/+	Có	+/+	Có
11	+/-	+	-	+/+	Không		
12	+/-	-	-	-/-	Có		
14	+/-	-	+	+/-	Có		
16	+/-	+	-	+/+	Không	+/-	Có
20	+/-		+	+/+	Có		
25	+/-	+	+	+/-	Không		
40	+/-	+	+	+/-	Không		
48	+/-	+	+	+/-	Không		
83	+/-	-	-	+/-	Không		
89.1	+/-	-	+	-/-	Không		
89.2	+/-	+	+	+/-	Không		
89.3	+/-	-	+	-/-	Không		
90	+/-		+	+/+	Có		

Nhận xét:

- Tất cả 15 gia đình có mẹ mang gen dị hợp tử với *BclI* đều tập hợp được đủ mẫu máu của các thành viên có liên quan, được tiến hành chẩn đoán tình trạng mang gen cho con gái.

- Phân tích gia đình số 16 cho thấy: con trai bị bệnh có *BclI* (-) do mẹ truyền cho vì vậy *BclI* (-) này thuộc nhiễm sắc thể X mang gen bệnh, nhiễm sắc thể có *BclI*(+) của mẹ là nhiễm sắc thể bình thường. Con gái 1 có *BclI* (+/+) thì 1 nhận từ bố và 1 nhận từ mẹ, mà như phân tích ở trên *BclI* (+) của mẹ nằm trên nhiễm sắc thể X bình thường, vì vậy con gái 1 không mang gen bệnh. Con gái 2 có *BclI*(+/-) mà *BclI* (+) nhận từ bố, *BclI*(-) nhận từ mẹ thuộc nhiễm sắc thể bị bệnh, do đó con gái 2 mang gen bệnh.

- Các gia đình khác phân tích tương tự. Kết quả là có 8 người được chẩn đoán mang gen và 9 người không mang gen.

Bảng 3.17. Kết quả chẩn đoán tình trạng mang gen bằng phân tích di truyền

	Mang gen		Không mang gen		Tổng số	
	n	%	n	%	n	%
Phân tích trực tiếp gen F8	30	42,3	41	57,7	71	100
Phân tích gián tiếp gen F8 (PCR – RFLP)	8	47,1	9	52,9	17	100
Tổng số	38	43,2	50	56,8	88	100

Nhận xét:

Qua phân tích di truyền (trực tiếp và gián tiếp) cho 88 người có khả năng mang gen đã phát hiện thêm 38 người mang gen chiếm tỉ lệ 43,2% và 50 người không mang gen chiếm tỉ lệ 56,8%.

Bảng 3.18. Tỷ lệ phát hiện người mang gen qua phân tích phả hệ kết hợp với phân tích di truyền

Đối tượng		n (n = 533)		%	
Mang gen	Bảng phân tích phả hệ	367	329	68,9	61,7
	Bảng phân tích gen trực tiếp		30		5,6
	Bảng phân tích gen gián tiếp		8		1,5
Không mang gen (xác định qua phân tích di truyền)		50		9,4	
Có khả năng mang gen		116		21,8	
Tổng số		533		100	

Nhận xét:

- Từ 533 nữ có liên quan, qua phân tích phả hệ phát hiện được 329 người mang gen chiếm tỉ lệ 61,7% và 204 người mang gen chiếm tỉ lệ 38,3%.

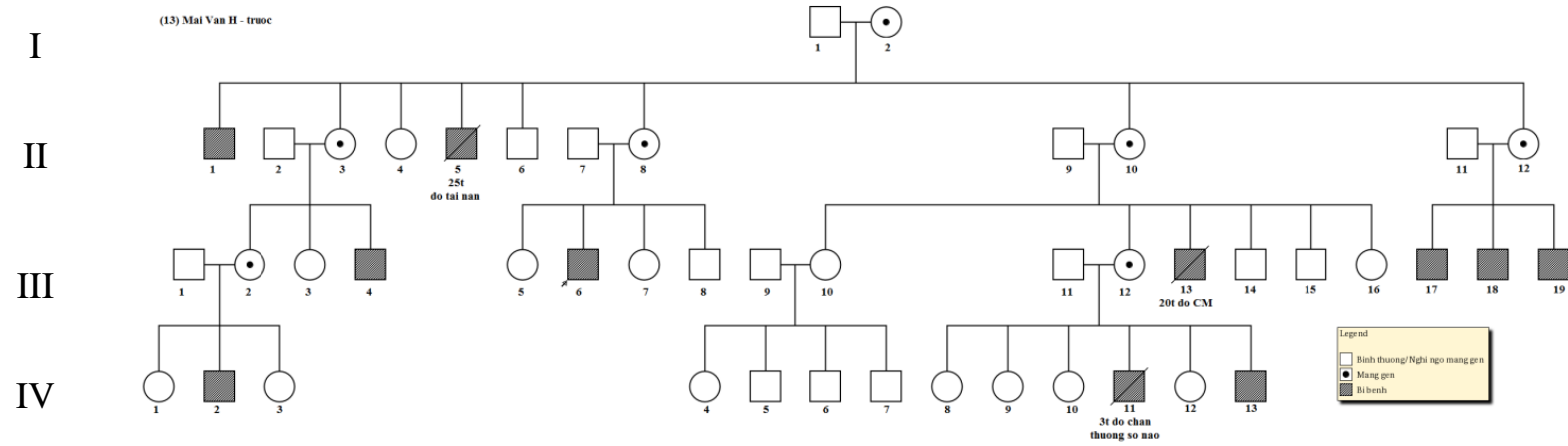
- Từ 204 người có khả năng mang gen, kết hợp với các phương pháp:

+ Phân tích đột biến gen *F8* phát hiện thêm 30 người mang gen chiếm tỉ lệ 5,6%.

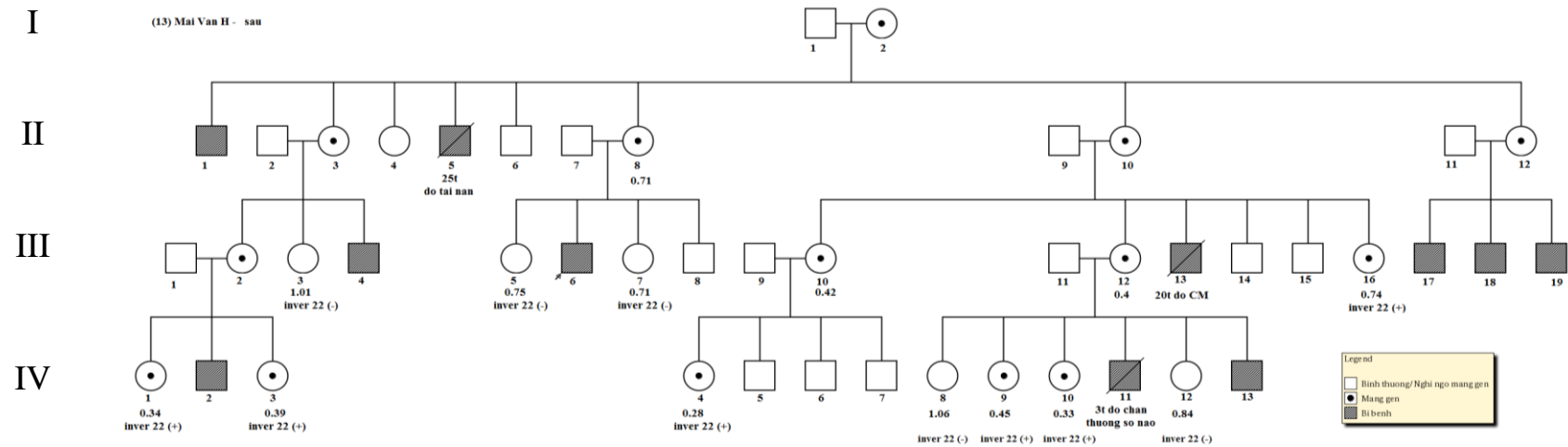
+ Phân tích PCR-RFLP với *BclI* phát hiện thêm 8 người mang gen chiếm tỉ lệ 1,5%.

- Tổng số người mang gen được phát hiện là 367 người chiếm tỉ lệ 68,9%.

- Số người còn lại bao gồm 50 người (chiếm tỉ lệ 9,4%) không mang gen được xác định qua phân tích di truyền và 116 người (chiếm tỉ lệ 21,8%) có khả năng mang gen chưa khẳng định được tình trạng mang gen.



Sơ đồ 3.3. Phả hệ của gia đình bệnh nhân Mai Văn H. (số 13) trước khi phân tích di truyền



Sơ đồ 3.4. Phả hệ của gia đình bệnh nhân Mai Văn H. (số 13) sau khi phân tích di truyền

Nhận xét:

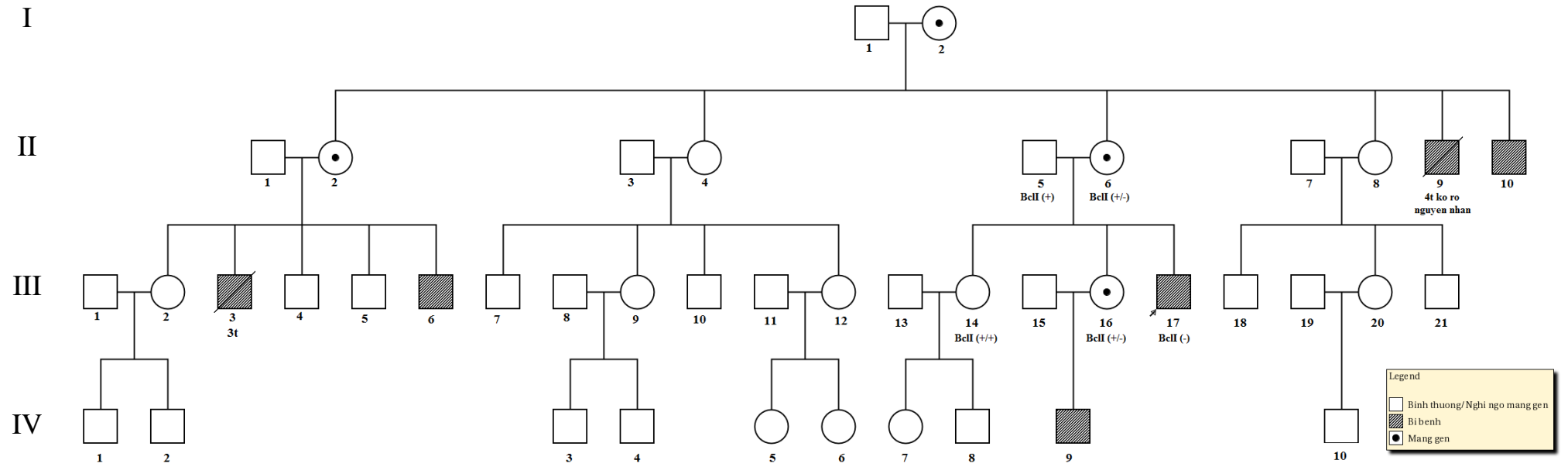
- Bệnh nhân Mai Văn H. (số 13) bị hemophilia A mức độ nặng có tổn thương di truyền là đảo đoạn intron 22. Gia đình bệnh nhân có 9 người có biểu hiện chảy máu bất thường bao gồm: II:1, II:5, III:4, III:13, III:17, III:18, III:19, IV:11, IV:13 trong đó có 3 thành viên (II:5, III:13, IV:11) đã chết do chảy máu. 6 thành viên còn sống được làm xét nghiệm, kết quả cho thấy tất cả đều bị hemophilia A mức độ nặng.

- Các thành viên I:2, II:3, II:8, II:10, II:12, III:2, III:12 là người chắc chắn mang gen do thỏa mãn các điều kiện:

+ I:2, II:12, III:12: Có ≥ 2 con trai bị bệnh.

+ II:3, II:8, II:10, III:2: Có 1 con bị hemophilia và có nhiều người nam khác trong gia đình bị bệnh.

- Các thành viên nữ có quan hệ huyết thống với bệnh nhân II:4, III:3, III:5, III:7, III:10, III:16, IV:1, IV:3, IV:4, IV:8, IV:9, IV:10, IV:12 là người có khả năng mang gen hemophilia do trong gia đình có người nam giới bị bệnh đồng thời lại chưa có con bị hemophilia. Các thành viên này được phân tích tìm đảo đoạn intron 22, kết quả cho thấy III:3, III:5, III:7, IV:8, IV:12 không mang gen; III:10, III:16, IV:1, IV:3, IV:4, IV:9, IV:10 mang gen.



Sơ đồ 3.5. Phả hệ gia đình bệnh nhân Phạm Hữu B. (số 16)

Nhận xét:

- Năm 2007, gia đình bệnh nhân Phạm Hữu B. (mức độ nặng) ngoài bệnh nhân còn có 4 thành viên nam giới khác là II:9, II:10, III:3, III:6 có biểu hiện chảy máu bất thường trong đó II:9 và III:3 đã chết. 2 thành viên còn lại được làm xét nghiệm chẩn đoán bị hemophilia.
- Các thành viên nữ là người chắc chắn mang gen do thỏa mãn các điều kiện:
 - + I:2, II:2: Có 2 con bị hemophilia,
 - + II:6: Có 1 con và 2 em trai bị hemophilia.
- Các thành viên II:4, II:8, III:2, III:9, III:12, III:14, III:16, III:20, IV:5, IV:6 là người có khả năng mang gen do có quan hệ huyết thống bên ngoại với người bị hemophilia.
- III:14 và III:16 có mẹ mang gen và dị hợp tử với *BclI* nên đã được phân tích tình trạng mang gen bằng *BclI*, kết quả là III:14 không mang gen còn III:16 mang gen (được trình bày ở bảng 3.16 - III:14 tương ứng với con gái 1, III:16 tương ứng với con gái 2). III:16 năm 2012 sinh ra con IV:8 bị bệnh, trở thành người chắc chắn mang gen và khẳng định kết quả của việc chẩn đoán tình trạng mang gen trước đó.

b. Phân tích yếu tố đông máu (tỉ số VIII/vWF:Ag)

- Xác định ngưỡng chẩn đoán:

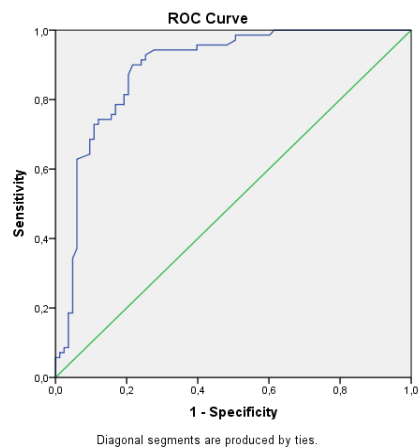
Trong số những người mang gen được phát hiện bằng phân tích phá hệ chúng tôi chọn ra 83 người thỏa mãn điều kiện giống như nhóm chứng: có tuổi từ 14 - 50, không có thai và không uống thuốc tránh thai để định lượng yếu tố VIII, vWF:Ag, tính tỉ số VIII/vWF:Ag và so sánh với nhóm chứng, kết quả được chỉ ra ở bảng 3.19.

Bảng 3.19. So sánh nồng độ yếu tố đông máu giữa người bình thường và người mang gen bệnh

Đối tượng	Yếu tố VIII (%)		vWF:Ag (%)		Tỉ số VIII/vWF:Ag	
	X ± SD	Min - max	X ± SD	Min - max	X ± SD	Min- max
Bình thường (n = 70)	81,4 ± 27,9	42 - 191	85,4 ± 30,3	35 - 195	0,95 ± 0,21	0,52 - 1,54
Mang gen bệnh (n = 83)	49,9 ± 19,6	16 - 131	86,2 ± 23,5	39 - 193	0,59 ± 0,22	0,21- 1,3
p	< 0,05		> 0,05		< 0,05	

Nhận xét:

- Giữa nhóm người bình thường và nhóm người mang gen bệnh không có sự khác biệt về nồng độ yếu tố von Willebrand.
- Nhóm người mang gen bệnh có nồng độ yếu tố VIII và tỉ số VIII/vWF:Ag thấp hơn hẳn nhóm người bình thường với $p < 0,05$.



Biểu đồ 3.6. Biểu đồ đường cong ROC của tỉ số VIII/vWF:Ag

Nhận xét:

Phân tích biểu đồ đường cong ROC của tỉ số VIII/vWF:Ag cho thấy diện tích dưới đường cong ROC là 0,89 hoặc là 89% (với $p < 0,01$); như vậy: tỉ số VIII/vWF:Ag cao hoặc thấp có khả năng xác định được tình trạng mang gen và tình trạng không mang gen.

Bảng 3.20. Kết quả tính độ nhạy và độ đặc hiệu của tỉ số VIII/vWF:Ag trong chẩn đoán người mang gen bệnh hemophilia A

Tọa độ của đường cong tỉ số VIII/vWF:Ag		
Ngưỡng kết luận	Độ nhạy	1 - độ đặc hiệu
...
,6526	,943	,312
,6603	,943	,313
,6659	,943	,330
,6741	,943	,289
,6891	,943	,277
,7034	,929	,253
,7080	,914	,253
,7098	,914	,241
,7112	,900	,241
,7124	,900	,229
Ngưỡng → ,7136	,900	,217
,7150	,871	,205
,7166	,857	,205
,7206	,843	,205
,7268	,829	,205
,7307	,814	,205
,7325	,814	,193
,7356	,800	,193
,7388	,786	,193
,7426	,786	,181
,7477	,786	,169
,7520	,771	,169
,7625	,757	,169
,7737	,757	,157
,7771	,743	,157
,7825	,743	,145
...

Nhận xét:

Căn cứ vào bảng phân tích trên chúng tôi chọn ngưỡng chẩn đoán cho tỉ số VIII/vWF:Ag sao cho có chỉ số J cao nhất [$J = (\text{độ nhạy} + \text{độ đặc hiệu}) - 1$] (chính là bằng độ nhạy - (1- độ đặc hiệu)).

Nếu chọn ngưỡng là 0,7112 thì $J = 0,900 - 0,241 = 0,659$.

Nếu chọn ngưỡng là 0,7124 thì $J = 0,900 - 0,229 = 0,671$.

Nếu chọn ngưỡng là 0,7136 thì $J = 0,900 - 0,217 = 0,683$.

Nếu chọn ngưỡng là 0,7150 thì $J = 0,871 - 0,205 = 0,666$.

Nếu chọn ngưỡng là 0,7166 thì $J = 0,857 - 0,205 = 0,652\dots$

Như vậy ngưỡng 0,7136 tương đương với độ nhạy là 0,9 (90%) và độ đặc hiệu là $1 - 0,217 = 0,783$ (78,3%) cho chỉ số J cao nhất là 0,683. Chính vì vậy chúng tôi chọn ngưỡng chẩn đoán là 0,7136, làm tròn thành 0,71.

• Áp dụng tỉ số VIII/vWF:Ag 0,71 chẩn đoán tình trạng mang gen

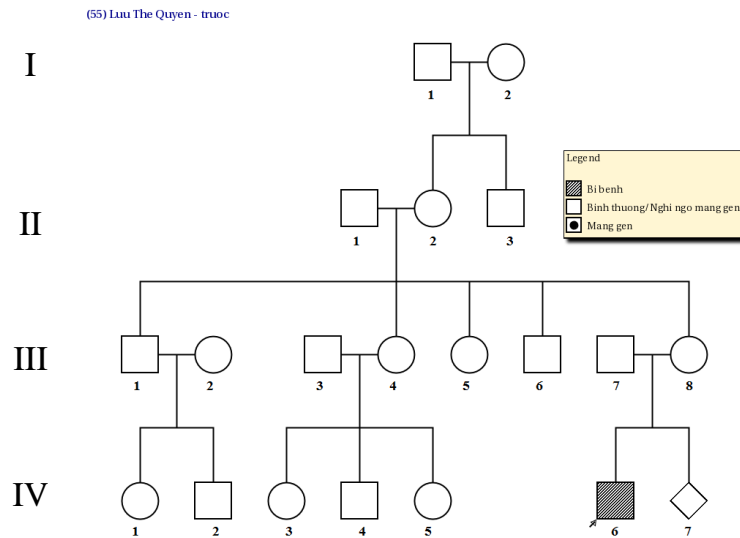
Trong số 204 người có khả năng mang gen xác định bằng phân tích phả hệ có 159 người được định lượng VIII và vWF:Ag, trong đó có 72 người (45%) có tỉ số VIII/vWF:Ag (gọi tắt là tỉ số) $< 0,71$, những người này được xác định là có mang gen. Những trường hợp còn lại có tỉ số $\geq 0,71$ không khẳng định được tình trạng mang gen.

Bảng 3.21. So sánh kết quả chẩn đoán tình trạng mang gen bằng tỉ số VIII/vWF:Ag với kết quả phân tích di truyền gen F8

Phương pháp chẩn đoán	Mang gen (n = 38)				Không mang gen (n = 50)			
	Tỉ số $< 0,71$		Tỉ số $\geq 0,71$		Tỉ số $< 0,71$		Tỉ số $\geq 0,71$	
	n	%	n	%	n	%	n	%
PCR - RFLP (n = 17)	6		2		0		9	
Phân tích đột biến gen (n = 71)	27		3		4		37	
Tổng số (n = 88)	33	86,8	5	13,2	4	8,0	46	92,0

Nhận xét:

Trong số những người có khả năng mang gen, bằng phân tích di truyền đã phát hiện 38 người mang gen và 50 người không mang gen. Trong số những người mang gen có 86,8% có tỉ số $< 0,71$. Trong số những người không mang gen có 4 người chiếm tỉ lệ 8% có tỉ số $< 0,71$. Như vậy, so với phương pháp phân tích di truyền thì tỉ số VIII/vWF:Ag đã phát hiện được đúng 86,8% người mang gen và chẩn đoán nhầm mang gen cho 8% trường hợp không mang gen.



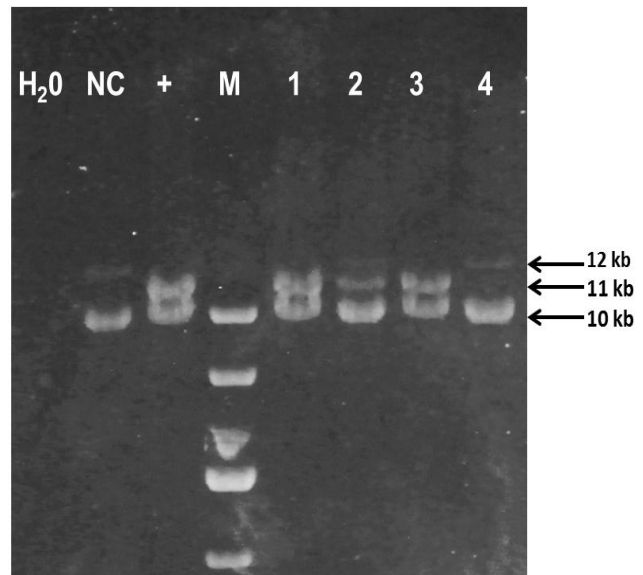
Sơ đồ 3.6. Phả hệ gia đình bệnh nhân Lưu Thế Q. (số 55)
trước khi phân tích di truyền và tỉ số VIII/vWF:Ag

Nhận xét:

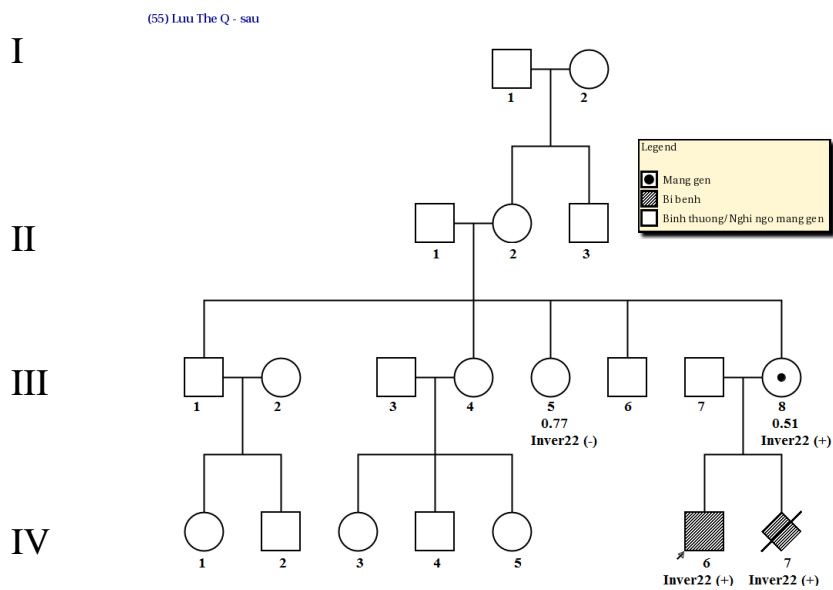
Gia đình bệnh nhân Lưu Thế Q. (số 55) chỉ có bệnh nhân (IV:6) là người duy nhất mắc bệnh, vì vậy mẹ bệnh nhân III:8 (đang có thai lần 2) và các thành viên nữ khác có quan hệ huyết thống bao gồm I:2, II:2, III:4, III:5, IV:3, IV:5 là người có khả năng mang gen. Phân tích tỉ số VIII/vWF:Ag cho mẹ bệnh nhân III:8 và bác bệnh nhân III:5 cho thấy III:8 có tỉ số là $0,51 < 0,71$ vì vậy là người mang gen, III:5 có tỉ số là $0,77 > 0,71$ vì vậy không khẳng định được tình trạng mang gen. Bệnh nhân IV:6 có đảo đoạn intron 22. Áp dụng phân tích đảo đoạn intron 22 cho III:8 và III:5 cho thấy III:8 có mang gen và III:5 không mang gen (hình 3.1). Như vậy là kết quả phân tích tỉ số VIII/vWF:Ag và phân tích di truyền cho kết quả tương đồng nhau ở hai thành viên này. Sau khi III:8 được xác định mang gen chúng tôi đã chẩn đoán trước sinh bằng phân tích đảo đoạn intron 22 cho thai nhi, kết quả thai nhi bị bệnh.

Chú thích:

- H₂O: Chứng âm
- NC: Mẫu nam âm tính
- +: Chứng dương
- M: Thang ADN chuẩn 1kb
- 1: Bệnh nhân Q. (IV:6): Có đảo đoạn intron 22 (10kb và 11kb)
- 2: Mẹ bệnh nhân (III:8): Dương tính dị hợp tử với đảo đoạn intron 22 (12 kb, 11kb và 10 kb)
- 3: Mẫu ối của thai nhi (IV:8): có đảo đoạn intron 22 (11 kb và 10 kb)
- 4: Bác bệnh nhân (III:5): không có đảo đoạn intron 22 (12 kb và 10 kb)



Hình 3.1. Hình ảnh điện di sản phẩm PCR phát hiện đảo đoạn intron 22 ở gia đình bệnh nhân Lưu Thế Q. (số 55)



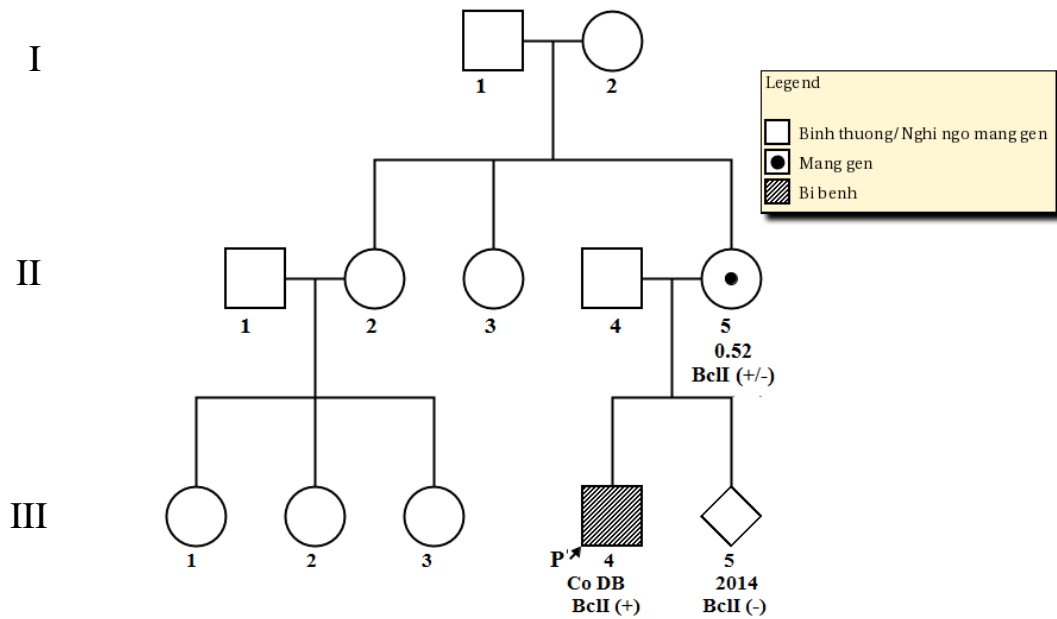
Sơ đồ 3.7. Phả hệ gia đình bệnh nhân Lưu Thế Q. (số 55) sau khi phân tích di truyền và tỉ số VIII/vWF:Ag

Bảng 3.22: Phối hợp áp dụng phân tích phả hệ, tỉ số VIII/vWF:Ag và phân tích PCR-RFLP trong chẩn đoán người mang gen và chẩn đoán trước sinh

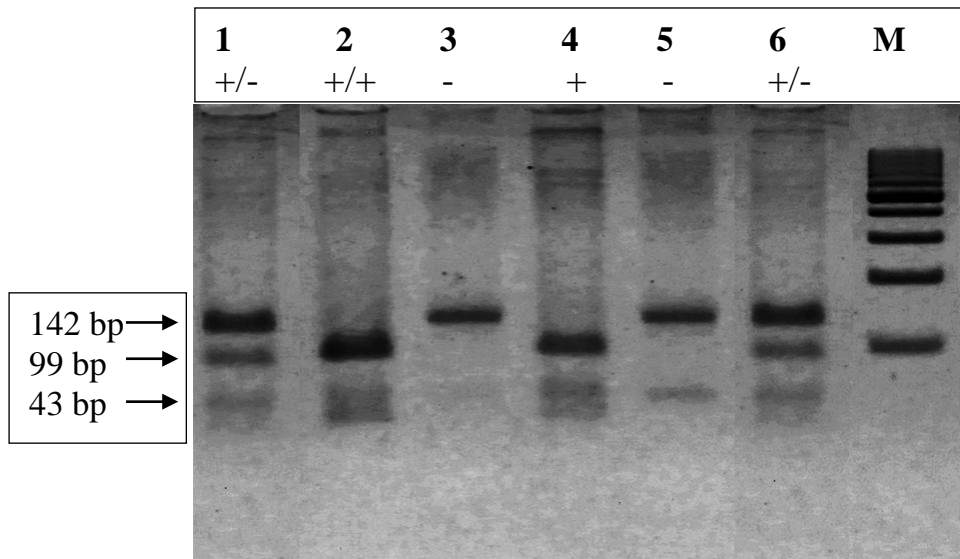
Phả hệ số	Mẹ			Bố (bình thường)	Bệnh nhân	Thai nhi (em trai)		Chị gái		
	Yếu tố VIII (%)	Tỉ số	Bcl	Bcl	Bcl	Bcl	Tình trạng bệnh	Bcl	Tỉ số	Tình trạng mang gen
51	53	0,42	+/-	-	+	+	Có	+/-	0,83	Có
54	55	0,52	+/-		+	-	Không			
63	40	0,28	+/-	+	-	-	Có			
94	36	0,4	+/-		+	-	Không			

Nhận xét:

Có 4 trường hợp thuộc gia đình số 51, 54, 63, 94 mẹ đã có 1 con bị bệnh hemophilia A, nay có thai lần tiếp (thai trai) muốn được chẩn đoán trước sinh cho thai nhi. Riêng gia đình số 51 còn có nhu cầu chẩn đoán tình trạng mang gen cho chị gái của bệnh nhân. Trong 4 người mẹ thì có mẹ thuộc gia đình số 63 là người mang gen còn 3 mẹ thuộc gia đình số 51, 54 và 94 là người có khả năng mang gen. Để áp dụng được phương pháp PCR-RFLP cho chẩn đoán trước sinh và chẩn đoán tình trạng mang gen cho con cái thì người mẹ phải là người chắc chắn mang gen. Chính vì vậy 3 người mẹ có khả năng mang gen được làm xét nghiệm định lượng yếu tố VIII, vWF:Ag, tính tỉ số VIII/vWF:Ag, kết quả lần lượt là 0,42; 0,52; 0,4; đều < 0,71 do đó được chẩn đoán là người mang gen. Áp dụng phương pháp phân tích PCR-RFLP với BclI/intron 18 cho các thành viên trong 4 gia đình xác định được thai nhi thuộc gia đình số 51 và 63 bị bệnh, thai nhi thuộc gia đình số 54 và 94 không bị bệnh; chị gái của bệnh nhân gia đình số 51 mang gen.



Sơ đồ 3.8. Sơ đồ phả hệ gia đình bệnh nhân Hoàng Quốc V. (số 54)



Hình 3.2. Kết quả phân tích PCR-RFLP với *BclII*/intron 18 của gia đình bệnh nhân Hoàng Quốc V. (số 54)

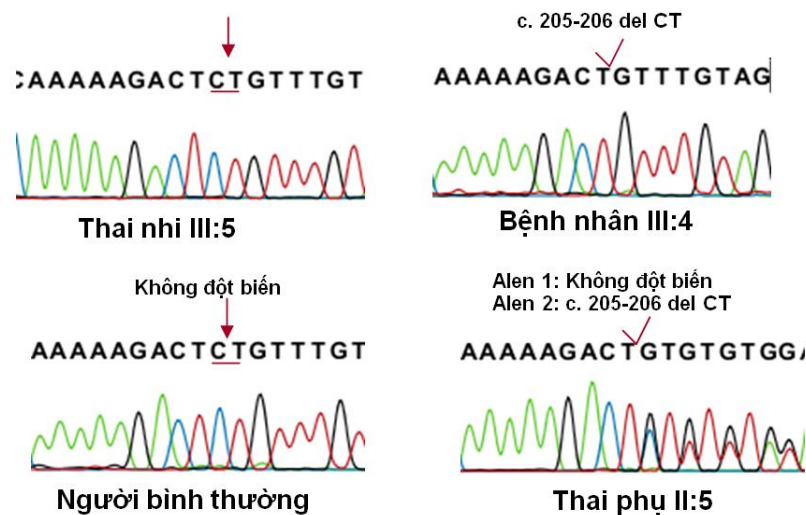
Chú thích:

- 1: Mẫu đối chứng cắt *BclII* dị hợp tử (+/-) 4: Sản phẩm PCR III:4 sau khi cắt *BclII* (+)
- 2: Mẫu đối chứng cắt *BclII* đồng hợp tử (+/+) 5: Sản phẩm PCR mẫu ối (III:5) sau khi cắt *BclII* (-)
- 3: Mẫu đối chứng không cắt *BclII* (-) 6: Sản phẩm PCR II:5 sau khi cắt *BclII* (+/-)
- M: Thang ADN chuẩn 100bp

Nhận xét:

Gia đình bệnh nhân Hoàng Quốc V. (số 54) có duy nhất bệnh nhân V. (III:4) bị bệnh. Mẹ bệnh nhân II:5 chỉ có 1 con trai bị bệnh và không có thành viên nào khác trong gia đình bị bệnh do đó là người có khả năng mang gen. II:5 được làm xét nghiệm có tỉ số VIII/vWF:Ag là 0,52 ($< 0,71$) do vậy được khẳng định là mang gen bệnh. II:5 có thai lần 2 là thai trai, có nhu cầu làm chẩn đoán trước sinh bệnh hemophilia cho thai nhi. Kết quả phân tích PCR-RFLP với *BclII*/intron 18 cho thấy II:5 có thông tin với *BclII* (*BclII* +/-). Bệnh nhân III:5 có kết quả *BclII* (+), vậy nhiễm sắc thể X của mẹ có *BclII* (+) là nhiễm sắc thể mang gen hemophilia, còn nhiễm sắc thể X có *BclII* (-) là nhiễm sắc thể bình thường. Phân tích nước ối cho thấy thai nhi có *BclII* (-), vậy thai nhi mang nhiễm sắc thể X bình thường của mẹ do đó thai nhi không mang gen (không bị bệnh).

- Gia đình số 54 ngoài được phân tích bằng tỉ số VIII/vWF:Ag và PCR-RFLP còn được phân tích bằng giải trình tự gen yếu tố VIII, các phương pháp cho kết quả tương tự nhau là mẹ (II:5) mang gen và thai nhi (III:5) không mang gen (không bị bệnh).



Hình 3.3. Kết quả chẩn đoán di truyền, chẩn đoán tình trạng mang gen và chẩn đoán trước sinh của các thành viên gia đình số 54 bằng giải trình tự gen

So sánh hình ảnh giải trình tự exon 2 gen F8 của bệnh nhân III:4. với trình tự GeneBank (NM_000132) phát hiện có đột biến mất 2 nucleotid CT trên exon 2 (c.205-206delCT) làm lệch khung dịch mã toàn bộ các acid amin từ vị trí codon 69 trên protein yếu tố VIII. Đột biến này đã được công bố là đột biến gây bệnh [74].

Hình ảnh giải trình tự exon 2 gen F8 của thai phụ II:5. (mẹ bệnh nhân III:4) xuất hiện các đỉnh chồng lên nhau sau điểm đột biến c.205-206delCT, chứng tỏ thai phụ mang gen F8 đột biến ở trạng thái dị hợp tử.

Hình ảnh giải trình tự exon 2 gen F8 của mẫu ói (thai nhi III:5) không có đột biến giống như đột biến đã phát hiện được trên bệnh nhân III:4(c.205-206delCT).

Kết luận: Mẹ mang gen, thai nhi không mang gen.

3.3. Đặc điểm của bệnh nhân và người mang gen mới được chẩn đoán

3.3.1. Đặc điểm của bệnh nhân mới

3.3.1.1. Về giới tính

147 bệnh nhân mới được chẩn đoán đều là nam giới.

3.3.1.2 Về tuổi lúc được chẩn đoán

Bảng 3.23. Thời điểm được chẩn đoán của các bệnh nhân mới (tuổi)

Mức độ Chỉ số	Nặng ⁽¹⁾	Trung bình ⁽²⁾	Nhẹ ⁽³⁾	Chung	p
X ± SD	7,4 ± 10,0	12,4 ± 18,8	25,7 ± 22,1	14,9 ± 18,6	p ₍₁₎₍₂₎ > 0,05
Trung vị	2	6	19	7	p ₍₁₎₍₃₎ < 0,05
Min - max	0 - 41	0 - 60	1 - 81	0 - 81	p ₍₂₎₍₃₎ < 0,05

Nhận xét:

Trung vị tuổi được chẩn đoán của các bệnh nhân mới là 7 tuổi, khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa các mức độ bệnh (p < 0,05). Các bệnh nhân mức độ nhẹ được phát hiện muộn hơn bệnh nhân mức độ nặng và trung bình. Bệnh nhân được phát hiện sớm nhất là ngay sau sinh bằng cách định lượng yếu tố VIII từ tĩnh mạch rốn, thuộc mức độ nặng. Bệnh nhân được phát hiện muộn nhất là 81 tuổi, thuộc mức độ nhẹ.

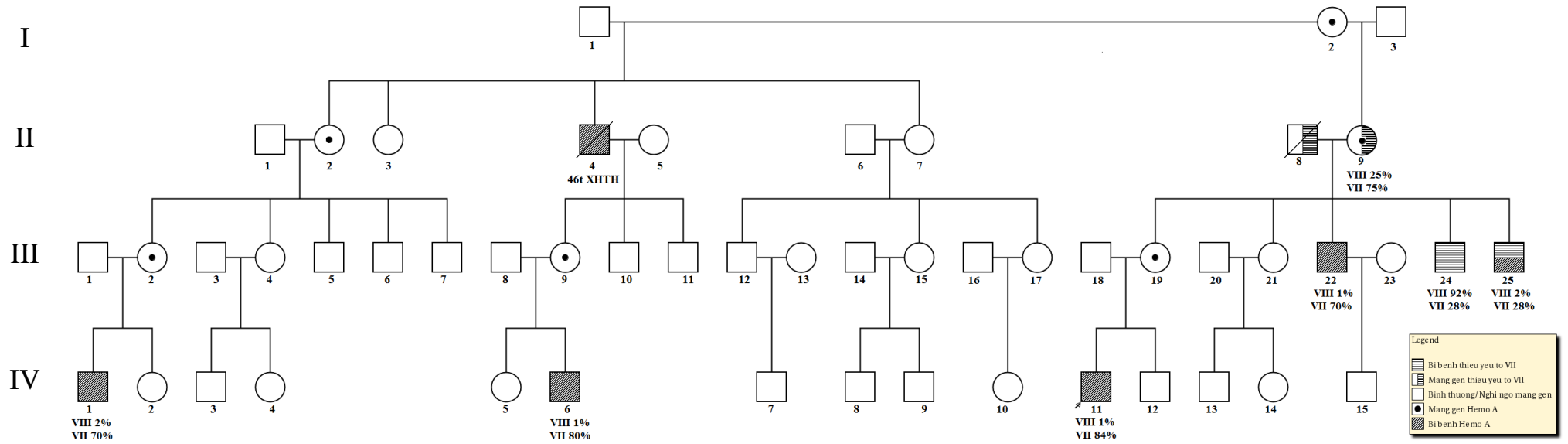
3.3.1.3. Về thể bệnh

Bảng 3.24. Phân loại bệnh nhân mới theo thể bệnh

	Số lượng	Tỉ lệ %
Hemophilia A	144	97,9
Hemophilia A kết hợp thiếu yếu tố VII bẩm sinh	1	0,7
Hemophilia B	1	0,7
Thiếu yếu tố VII bẩm sinh đơn thuần	1	0,7
Tổng số	147	100

Nhận xét:

- Hầu hết bệnh nhân mới được phát hiện là hemophilia A.
- Có 1 bệnh nhân bị hemophilia A kết hợp với thiếu tố VII bẩm sinh và 1 bệnh nhân thiếu yếu tố VII bẩm sinh đơn thuần. Hai người này là anh em ruột thuộc gia đình số 44. Phả hệ của gia đình này được mô tả trong sơ đồ 3.9.
- Có 1 bệnh nhân mới bị hemophilia B. Đây là con của 1 người bố bị hemophilia A và 1 người mẹ mang gen hemophilia B, thuộc gia đình số 77. Phả hệ của gia đình này được mô tả trong sơ đồ 3.10 và sơ đồ 3.11.

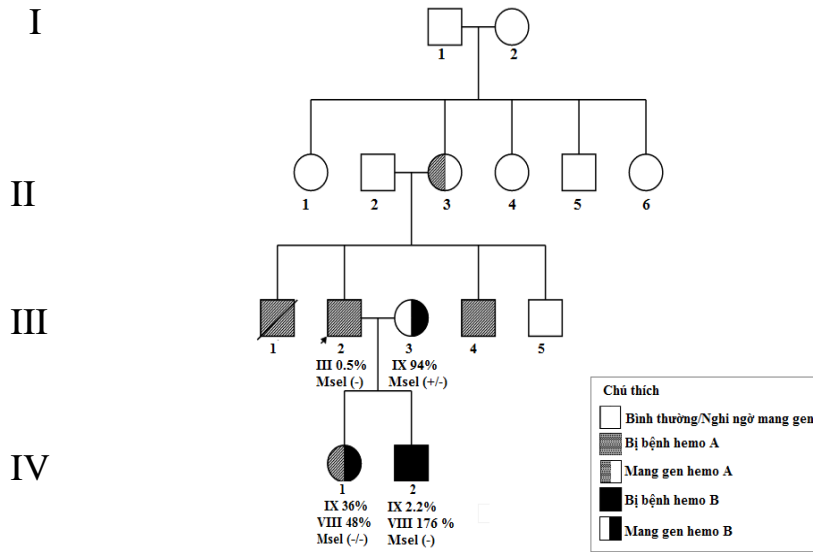


Sơ đồ 3.9. Phả hệ gia đình bệnh nhân Hoàng Minh D. (số 44)

Nhận xét:

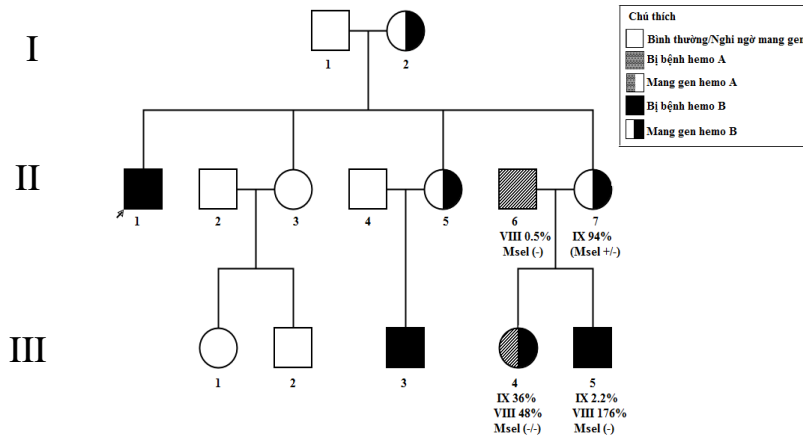
- Xuất phát từ bệnh nhân gốc IV:11, lần theo phả hệ kết hợp với bảng hỏi cho thấy trong gia đình có 5 thành viên nam giới khác có biểu hiện chảy máu bất thường có khả năng bị hemophilia bao gồm III:22, III:25, IV:1, IV:6 và II:4 trong đó II:4 đã chết. 4 thành viên còn sống được làm xét nghiệm cho kết quả yếu tố VIII giảm và được kết luận là hemophilia A.
- Thành viên II:9 có 2 con là III:22 và III:25 bị hemophilia A vì vậy là người mang gen hemophilia A.
- Thành viên III:19 có con trai là IV:11 và em trai là III:22 và III:25 bị hemophilia A vì vậy là người mang gen hemophilia A.
- III:2 và III:9 có 1 con trai bị bệnh (IV:1 và IV:6) và có anh em họ (III:22, III:25) bị bệnh vì vậy là người mang gen bệnh. Điều này cũng gián tiếp khẳng định III:9 được truyền gen bệnh từ bố là II:4 (II:4 bị bệnh).
- I:2 có con trai II:4 và có nhiều cháu trai bị bệnh vì vậy I:2 là người mang gen.
- II:2 có mẹ là I:2 và con gái là III:2 mang gen bệnh, chồng của II:2 là II:1 không có biểu hiện bị bệnh vì vậy II:2 là người mang gen bệnh.
- Các thành viên nữ khác trong gia đình bao gồm II:3, II:7, III:4, III:15, III:17, III:21, IV:2, IV:4, IV:5, IV:10, IV:14 là những người có khả năng mang gen hemophilia A.
- III:25 ngoài bị hemophilia A còn có yếu tố VII giảm. Anh trai của III:25 là III:24 cũng có yếu tố VII giảm. Thiếu yếu tố VII là một bệnh lí di truyền lặn nhiễm sắc thể thường. Gọi A là gen quy định tổng hợp yếu tố VII bình thường, a là gen quy định tổng hợp yếu tố VII bệnh lí. Hai anh em đều thiếu yếu tố VII nên có kiểu gen là aa. Mỗi anh em nhận 1 a từ bố và 1 a từ mẹ. Mẹ III:24 và III:25 là II:9 có nồng độ yếu tố VII bình thường, do vậy có kiểu gen là Aa. Như vậy thành viên II:9 vừa mang gen hemophilia A vừa mang gen thiếu yếu tố VII.

- Chồng bà II:9 là II:8 như phân tích ở trên có ít nhất 1 alen a. Do II:8 đã mất nên không có thông tin về nồng độ yếu tố VII của ông. Kiểu gen của ông có thể là Aa hoặc aa.
- Đây là phả hệ duy nhất có thành viên vừa bị hemophilia A vừa bị thiếu yếu tố VII bẩm sinh.



Sơ đồ 3.10. Phả hệ gia đình bệnh nhân Nguyễn Như T. (số 77)

Gia đình vo Nguyễn Như T



Sơ đồ 3.11. Phả hệ gia đình vợ bệnh nhân Nguyễn Như T. (số 77)

Nhận xét:

- IV:1 có bố bị hemophilia A nên là người chắc chắn mang gen hemophilia A.
- Mẹ của IV:1 (là III:3 trong sơ đồ 3.10 và II:7 trong sơ đồ 3.11) vừa có anh

trai bị hemophilia B vừa có con trai bị hemophilia B vì vậy là người chắc chắn mang gen hemophilia B.

- IV:1 có mẹ là người mang gen hemophilia B nên IV:1 có khả năng mang gen hemophilia B.
- Như vậy IV:1 là người mang gen hemophilia A và có khả năng mang gen hemophilia B.

3.3.1.4. Về mức độ bệnh

Bảng 3.25. Phân bố bệnh nhân mới theo mức độ bệnh

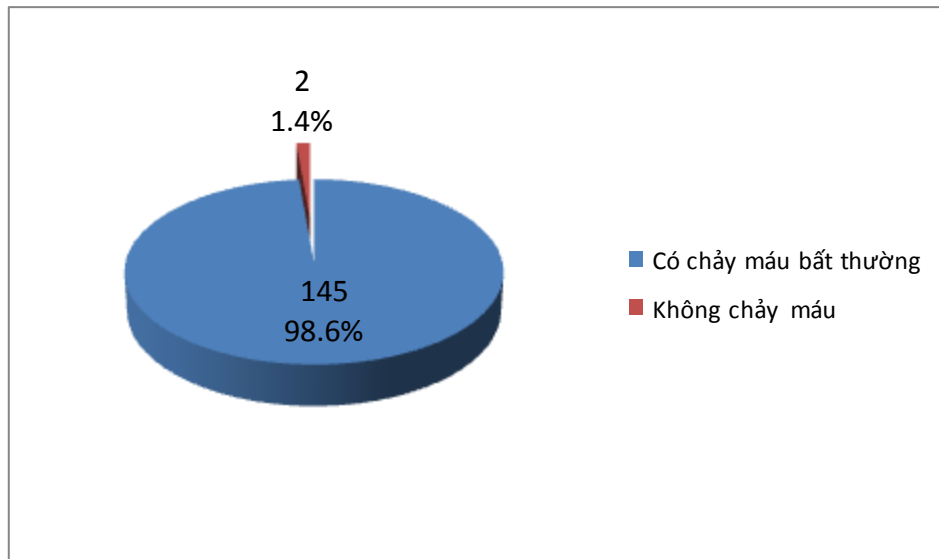
Mức độ bệnh	Số phả hệ		Số bệnh nhân mới (người)		Số bệnh nhân mới theo phả hệ (người)	
	n	%	n	%	$X \pm SD$	Min-max
Nặng₍₁₎	76	76%	75	51,0	$0,99 \pm 0,97$	0 - 4
Trung bình₍₂₎	9	9%	19	12,9	$2,1 \pm 1,2$	0 - 4
Nhẹ₍₃₎	15	15%	53	36,1	$3,5 \pm 3,6$	0 - 14
Tổng số	100	100%	147	100	1,5	0 - 14
p			$p_{(1)(2)} < 0,05$ $p_{(1)(3)} < 0,05$ $p_{(2)(3)} > 0,05$			

Nhận xét:

- Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về số lượng bệnh nhân phát hiện mới giữa các mức độ bệnh của bệnh nhân gốc với $p < 0,05$. Trung bình mỗi phả hệ phát hiện được 1,5 bệnh nhân mới, dao động từ 0 - 14 người trong đó những gia đình bệnh nhân mức độ nhẹ và trung bình phát hiện được nhiều bệnh nhân mới hơn so với gia đình bệnh nhân mức độ nặng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- Tỷ lệ bệnh nhân mới phân theo mức độ nặng, trung bình, nhẹ lần lượt là 51,0%, 12,9% và 36,1% trong đó mức độ nặng chiếm tỷ lệ cao nhất.

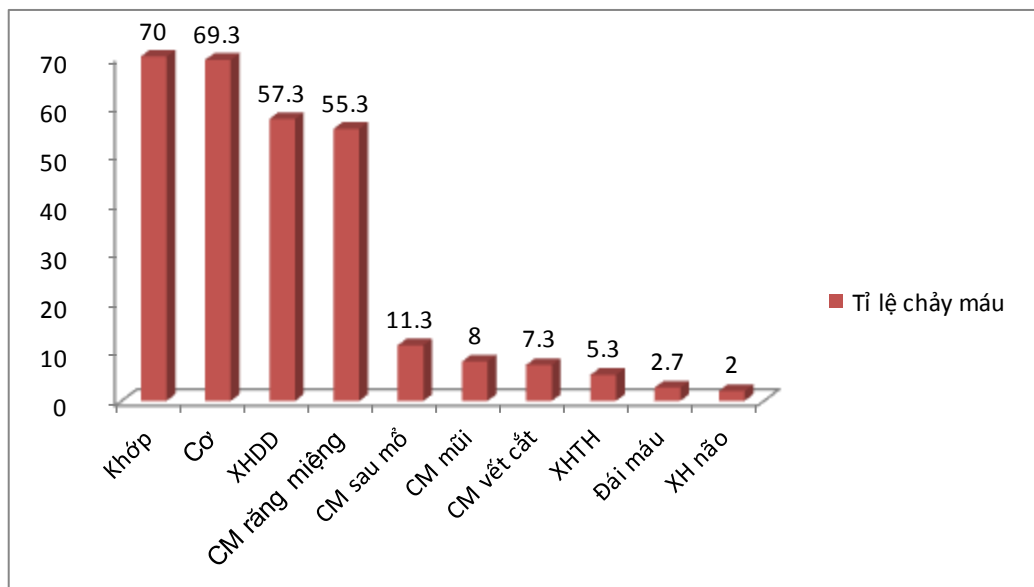
3.3.1.5. Đặc điểm của bệnh nhân mới về lâm sàng và xét nghiệm



Biểu đồ 3.7. Tỷ lệ bệnh nhân có biểu hiện chảy máu bất thường

Nhận xét:

Hầu hết (98,6%) bệnh nhân mới đều có biểu hiện chảy máu lâu cầm. Chỉ có hai bệnh nhân mức độ nhẹ (1,4%) chưa phát hiện biểu hiện chảy máu lâu cầm.



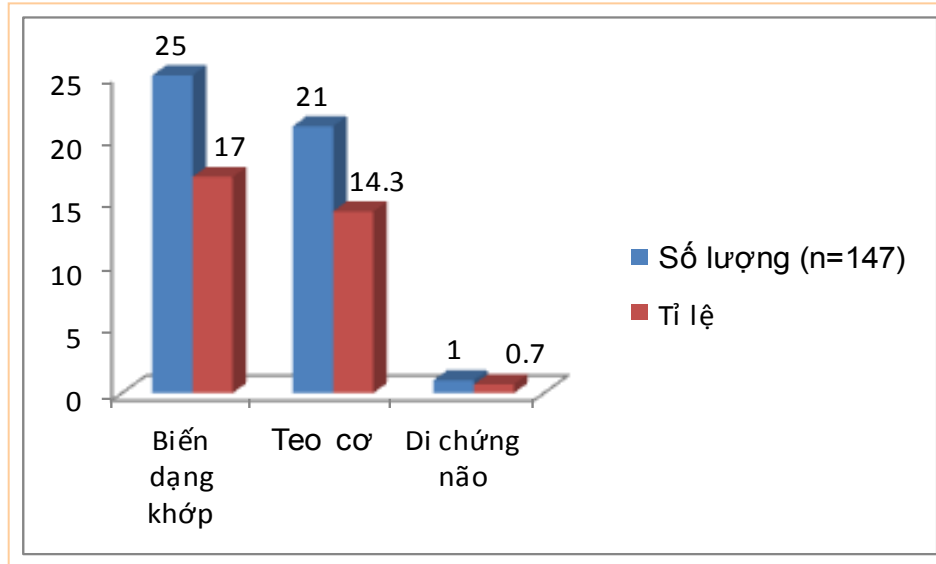
Biểu đồ 3.8. Triệu chứng chảy máu của các bệnh nhân mới

Nhận xét:

- Chảy máu khớp, chảy máu cơ, xuất huyết dưới da, chảy máu răng miệng

là các triệu chứng hay gặp nhất, lần lượt là 70%, 69,3%, 57,3% và 55,3%.

- Chảy máu kéo dài sau mổ, chảy máu mũi, chảy máu vết cắt chiếm tỉ lệ thấp hơn, lần lượt là 11,3%; 8%; 7,3%.
- Xuất huyết tiêu hóa, đái máu, xuất huyết não chiếm tỉ lệ thấp.



Biểu đồ 3.9. Biến chứng do chảy máu ở các bệnh nhân mới

Nhận xét:

Có 27 bệnh nhân chiếm tỉ lệ 18,4% có biến chứng do chảy máu trong đó có 25 người (chiếm 17%) có biến dạng khớp, 21 người (chiếm 14,3%) có teo cơ và 1 người (chiếm tỉ lệ 0,7%) bị di chứng do xuất huyết não.



Hình 3.4 và 3.5. Biến dạng và hạn chế vận động khớp khuỷu và cổ chân ở bệnh nhân Hoàng Văn C.(Thanh Hóa).

Bệnh nhân không thể duỗi thẳng tay và gập cổ chân do cứng khớp.

Bảng 3.26. Đặc điểm xét nghiệm đông cầm máu của bệnh nhân được chẩn đoán mới

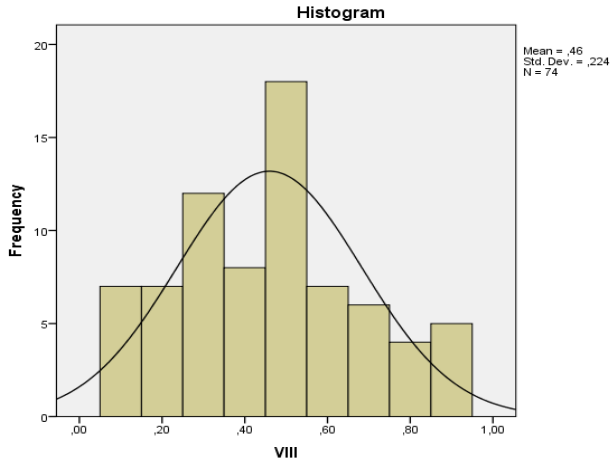
Chỉ số	n	X ± SD	Min - max
rAPTT	147	3,4 ± 1,5	1,1 - > 5
PT (%)	141	104,3 ± 19,6	52 - 191
rTT	141	1,0 ± 0,1	0,9 - 1,3
Fibrinogen (g/l)	141	3,4 ± 0,9	2,2 - 6,3
Số lượng tiểu cầu (x10⁹/l)	147	285,5 ± 88,2	150 - 571
Yếu tố VIII (%)	147	6,3 ± 17,1/trung vị 0,9	0,1 - 176
Yếu tố IX (%)	1	2,2	
Yếu tố VII (%)	4	51,5 ± 27,44	28 - 80
Kháng đông nội sinh	146	Âm tính	

Nhận xét:

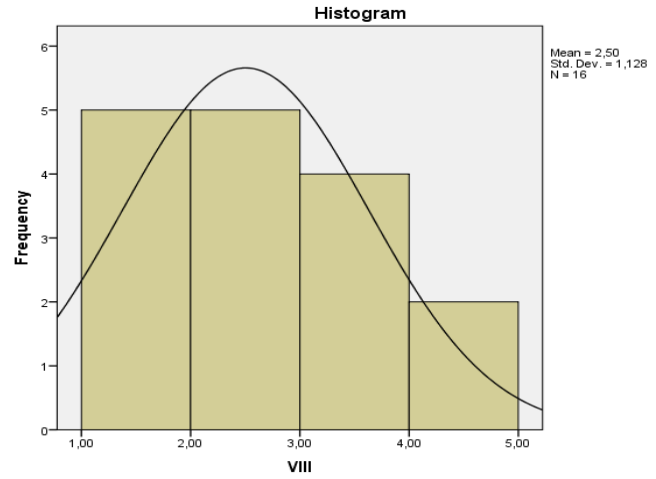
- Chỉ số rAPTT của các bệnh nhân mới được chẩn đoán là $3,4 \pm 1,5$, dao động từ 1,1 - > 5 trong đó tất cả các bệnh nhân hemophilia đều có APTT kéo dài. Chỉ duy nhất 1 bệnh nhân thiếu yếu tố VII thuộc gia đình số 44 có APTT bình thường.
- Tất cả các bệnh nhân hemophilia có kháng đông nội sinh âm tính.
- Tất cả các bệnh nhân có TT trong giới hạn bình thường.
- Không có bệnh nhân nào có giảm fibrinogen và số lượng tiểu cầu.
- Giá trị trung bình của chỉ số PT% là $99,0 \pm 27,1$, dao động từ 52% đến 147%.
- Có 2 bệnh nhân chiếm 1,4% có PT giảm nhẹ là 52% và 58%.
- Nồng độ yếu tố VIII trung vị của các bệnh nhân là 0,9%, dao động từ 0,1 đến 176% trong đó có 2 trường hợp bình thường là của bệnh nhân thiếu yếu tố

tổ VII bẩm sinh (92%) và bệnh nhân hemophilia B (176%).

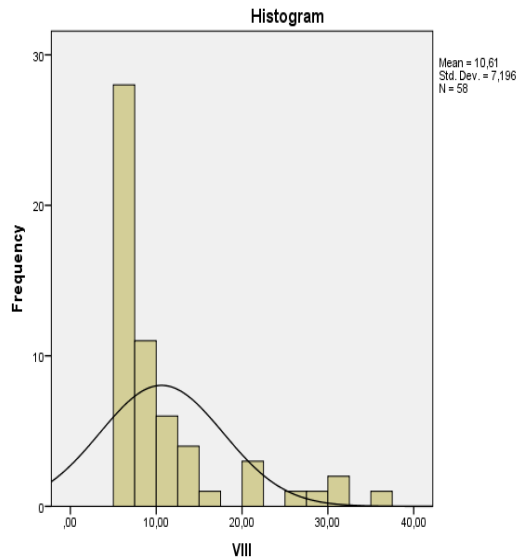
- Bệnh nhân hemophilia B duy nhất có yếu tố IX giảm là 2,2%.



Biểu đồ 3.10. Phân bố nồng độ yếu tố VIII ở các bệnh nhân hemophilia mức độ nặng



Biểu đồ 3.11. Phân bố nồng độ yếu tố VIII ở các bệnh nhân hemophilia mức độ trung bình



Biểu đồ 3.12. Phân bố nồng độ yếu tố VIII ở các bệnh nhân hemophilia mức độ nhẹ

Nhận xét:

Nồng độ yếu tố VIII của các bệnh nhân trong cùng một gia đình là tương đương.

3.3.2. Đặc điểm của người mang gen bệnh

3.3.2.1. Về tuổi

Bảng 3.27. Đặc điểm về tuổi của người mang gen, người có khả năng mang gen và nhóm phụ nữ bình thường

	Số lượng (n)	Tuổi trung bình (tuổi) ($X \pm SD$)	Min - max
Người mang gen	329	38,9 \pm 16,7	6 tháng – 86 tuổi
Người có khả năng mang gen	204	24,3 \pm 14,0	6 tháng – 69 tuổi
Người phụ nữ bình thường	70	28,5 \pm 8,1	14 - 50 tuổi

Nhận xét:

- Tuổi trung bình của người mang gen, người có khả năng mang gen lần lượt là 38,9 \pm 16,7 tuổi và 24,3 \pm 14 tuổi.

- Người mang gen trẻ nhất được phát hiện là 6 tháng tuổi và nhiều tuổi nhất là 86 tuổi.

- Nhóm phụ nữ bình thường có tuổi trung bình là 28,5 \pm 8,1 tuổi, trẻ nhất là 14 tuổi, lớn nhất là 50 tuổi.

3.3.2.2. Về thể bệnh

Do bệnh nhân gốc là hemophilia A nên tất cả 329 người mang gen của chúng tôi đều mang gen hemophilia A. Tuy nhiên, gia đình số 77 có bố bị hemophilia A mức độ nặng lấy mẹ mang gen hemophilia B, con gái của họ vì vậy vừa mang gen hemophilia A vừa có khả năng mang gen hemophilia B. Người mẹ trong gia đình có thông tin với *MseI* là 1 marker hay dùng trong chẩn đoán liên kết hemophilia B do đó chúng tôi đã áp dụng phân tích PCR-RFLP với *MseI* cho các thành viên trong gia đình, kết hợp với định lượng yếu tố VIII, IX để xác định chính xác tình trạng mang gen của người phụ nữ này, kết quả thể hiện ở bảng 3.28.

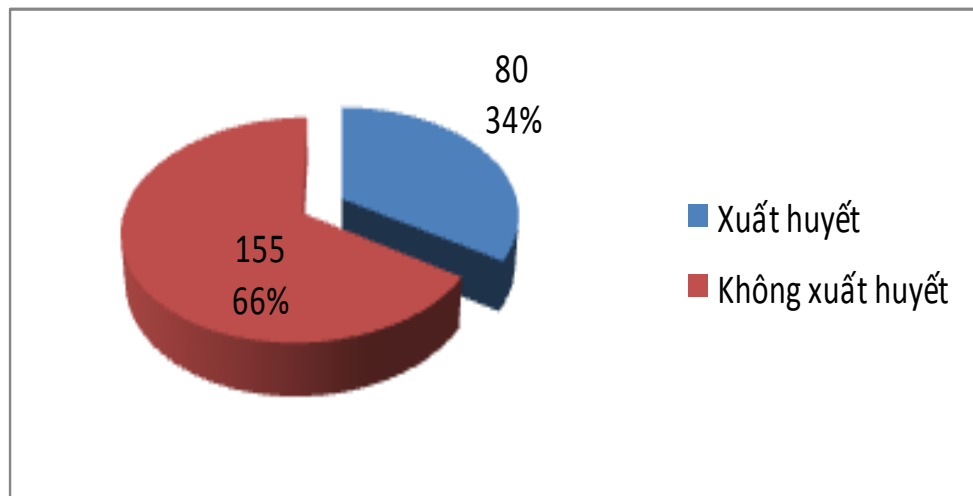
Bảng 3.28. Kết quả phân tích PCR-RFLP với *MseI* và định lượng yếu tố đông máu của gia đình số 77

Mẹ (mang gen hemophilia B)		Bố (bị bệnh hemophilia A)		Con trai (bị bệnh hemophilia B)		Con gái				
Yếu tố IX (%)	<i>MseI</i>	<i>MseI</i>	Yếu tố VIII (%)	<i>MseI</i>	Yếu tố IX	<i>MseI</i>	Yếu tố IX (%)	Yếu tố VIII (%)	Tình trạng mang gen <i>F9</i>	Tình trạng mang gen <i>F8</i>
94	+/-	-	0,5%	-		-/-	36	48	Có	Có

Nhận xét:

- Người con gái có nồng độ yếu tố VIII là 48% và yếu tố IX là 36%, thấp hơn giá trị bình thường (50%).
- Người mẹ là người mang gen hemophilia B, có 2 nhiễm sắc thể X với 1 alen *MseI* (+) và 1 alen *MseI* (-), 1 trong 2 alen này có đột biến gây bệnh hemophilia B.
- Vì con trai bị bệnh hemophilia B có *MseI* (-), và alen này nhận từ mẹ, vì vậy alen *MseI* (-) của mẹ là alen mang đột biến gây bệnh hemophilia B, alen *MseI* (+) của mẹ là alen bình thường.
- Người con gái có kết quả *MseI* (-/-) trong đó 1 alen (-) nhận từ bố và 1 alen () nhận từ mẹ, mà theo phân tích trên alen (-) của mẹ mang đột biến gây bệnh, vì vậy người con gái là người mang gen bệnh hemophilia B. Kết quả này phù hợp với việc người con gái có nồng độ yếu tố IX thấp hơn bình thường.
- Như vậy người con gái trong gia đình số 77 vừa mang gen hemophilia A, vừa mang gen hemophilia B.

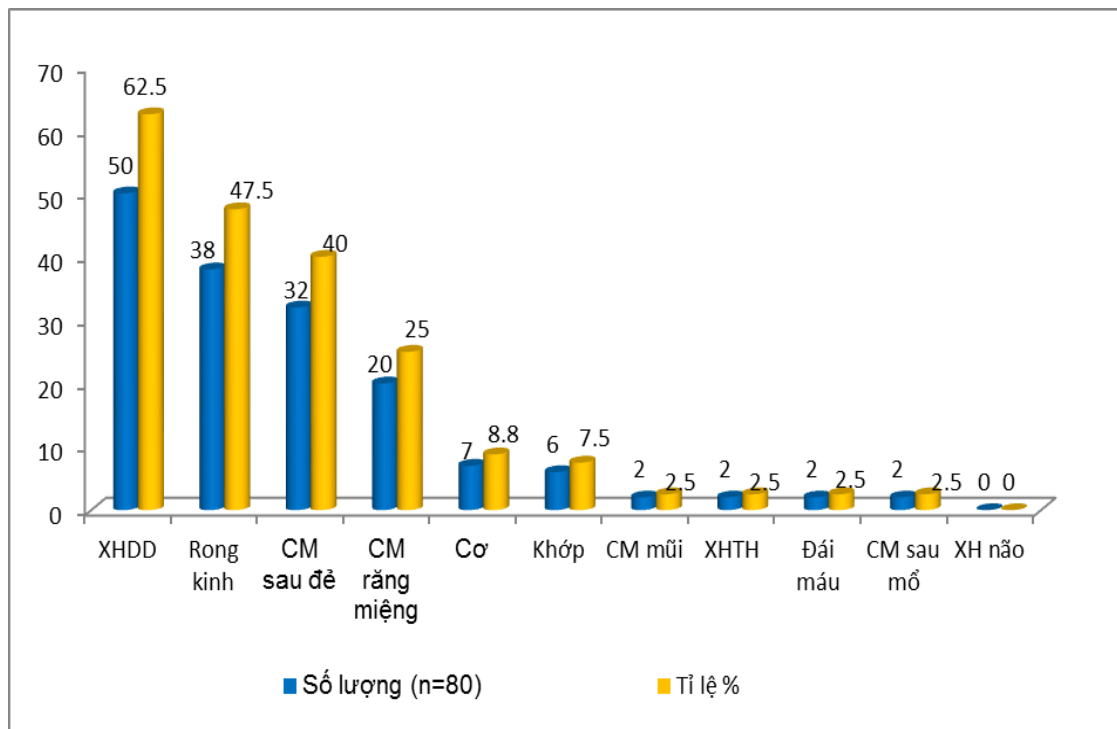
3.3.2.3. Đặc điểm xuất huyết



Biểu đồ 3.13. Tỷ lệ xuất huyết của người mang gen

Nhận xét:

Trong số 329 người chắc chắn mang gen được phát hiện qua phân tích phả hệ có 235 người trả lời bộ câu hỏi, trong đó có 80 người có biểu hiện xuất huyết chiếm tỷ lệ 34%.



Biểu đồ 3.14. Biểu hiện xuất huyết của người mang gen bệnh

Nhận xét:

- Xuất huyết dưới da, rong kinh, chảy máu sau đẻ, chảy máu răng miệng là các vị trí chảy máu hay gặp nhất với tỉ lệ lần lượt là 62,5; 47,5; 40 và 25%.
- Trong số những người mang gen có biểu hiện xuất huyết thì có 7,5% bị chảy máu khớp và 8,8% bị chảy máu cơ.
- Tỉ lệ người bị xuất huyết tiêu hóa, đái máu, chảy máu mũi ít gặp hơn, cùng là 2,5%.
- Có 2 trường hợp bị chảy máu sau mổ trong đó có 1 trường hợp phải điều trị bằng bổ sung yếu tố VIII mới cầm được chảy máu.
- Không có ai bị xuất huyết não.

*3.3.2.3. Đặc điểm xét nghiệm đông máu**a. APTT và kháng đông nội sinh*

Bảng 3.29. Đặc điểm kết quả xét nghiệm APTT và kháng đông nội sinh ở người mang gen

rAPTT		n		%		Kháng đông nội sinh
Kéo dài (r > 1,25)	> 1,25 đến ≤ 1,5	35	40	23,4	26,7	100% âm tính
	> 1,5 đến ≤ 2,0	5		3,3		
	> 2,0	0		0		
Bình thường (0,8 đến ≤ 1,25)		110		73,3		
Tổng		150		100		

Nhận xét:

Có 150 người chắc chắn mang gen được làm xét nghiệm APTT và định lượng yếu tố VIII. Kết quả gặp 40 người chiếm 26,7% có APTT kéo dài trong đó đa số là kéo dài ở mức độ nhẹ. Tất cả những người có APTT kéo dài đều không có kháng đông lưu hành đường nội sinh.

Bảng 3.30. Sự liên quan giữa APTT và triệu chứng xuất huyết

Triệu chứng APTT	Có xuất huyết (n = 72)	Không xuất huyết (n = 81)	p
Kéo dài (n = 40)	26	15	p < 0,05 OR = 2,5
Bình thường (n = 110)	46	66	

Nhận xét:

Người mang gen hemophilia có APTT kéo dài có nguy cơ xuất huyết cao hơn 2,5 lần người có APTT bình thường, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

b. Nồng độ yếu tố VIII

Bảng 3.31. Đặc điểm nồng độ yếu tố VIII ở nhóm người mang gen

Nồng độ yếu tố VIII (%)		n	%
X ± SD	52,6 ± 20,6	< 40	40 26,7
		≥ 40 đến ≤ 60	65 43,3
Min - max	10 - 131	> 60	45 30
		Tổng số	150 100

Nhận xét:

- Nồng độ yếu tố VIII trung bình ở người mang gen là $52,6 \pm 20,6\%$, ở giới hạn thấp của bình thường, dao động từ 10 - 131%.
- Có 40 người (chiếm tỉ lệ 26,7%) có nồng độ yếu tố VIII < 40% nhưng > 5%. Những người này đã đạt mức để chẩn đoán là bệnh nhân hemophilia A mức độ nhẹ.
- Người mang gen có nồng độ yếu tố VIII từ 40 - 60% chiếm tỉ lệ cao nhất là 43,3%.
- Chỉ có 45 người (chiếm tỉ lệ 30%) có nồng độ yếu tố VIII > 60%.

Bảng 3.32. So sánh nồng độ yếu tố VIII giữa những người mang gen hemophilia mức độ khác nhau

		Nồng độ yếu tố VIII trung bình (%)		Oneway Anova test, F= 2.47, P = 0,088
Mức độ Nặng (n= 94)	X ± SD	53,5 ± 19,3		
	Min - max	17 - 120		
Mức độ trung bình (n = 11)	X± SD	60.7 ± 22.2		
	Min - max	25 - 91		
Mức độ nhẹ (n = 45)	X ± SD	47,3 ± 22,1		
	Min - max	10 - 131		
Chung (n = 150)	X ± SD	52,2 ± 20,6		
	Min - max	10 - 131		

Nhận xét:

Giữa những người mang gen mức độ nặng, trung bình và nhẹ không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về nồng độ yếu tố VIII, với $p > 0,05$.

Bảng 3.33. So sánh nồng độ yếu tố VIII ở người mang gen mức độ nặng có đảo đoạn intron 22 và không có đảo đoạn intron 22

	Đảo đoạn intron 22 (n = 40)		Không đảo đoạn intron 22 (n = 54)		Chung (n = 94)	
	X ± SD	Min - max	X ± SD	Min - max	X ± SD	Min - max
Nồng độ yếu tố VIII trung bình	52.9 ± 18.3	22 - 90	54.1 ± 20.2	17 - 120	52.2 ± 20.6	17 - 120
T test = -.296, p = 0,768						

Nhận xét:

Trong số những người mang gen mức độ nặng không có sự khác biệt về nồng độ yếu tố VIII giữa những người có đảo đoạn intron 22 và người không có đảo đoạn intron 22 với $p > 0,05$.

Bảng 3.34. Liên quan giữa nồng độ yếu tố VIII và tình trạng xuất huyết

Triệu chứng		Có xuất huyết (n = 73)		Không xuất huyết (n = 77)		p
		n	Tỉ lệ	n	Tỉ lệ	
Nồng độ yếu tố VIII						$p_{1,2} < 0,01$ $p_{2,3} < 0,01$ $p_{1,3} < 0,01$ $p_{1,4} < 0,01$ $OR_{1,4} = 10,3$ $OR_{1,2} = 5,1$ $OR_{2,3} = 8,7$
< 40% (n = 40) ₍₁₎		34	85%	6	15%	
≥ 40 ₍₄₎ (n = 110)	40% - 60% (n = 65) ₍₂₎	34	52,3%	31	47,7%	
	> 60% (n = 45) ₍₃₎	5	11,1%	40	88,9%	

Nhận xét:

- Trong 3 mức nồng độ yếu tố VIII < 40%, 40 - 60% và > 60% thì người mang gen có nồng độ yếu tố VIII càng thấp có tỉ lệ xuất huyết càng cao. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.
- Nguy cơ xuất huyết ở người có yếu tố VIII < 40% cao hơn người có yếu tố VIII ≥ 40% là 10,3 lần với p của OR < 0,01.
- Nguy cơ xuất huyết của nhóm có nồng độ yếu tố VIII < 40% cao hơn nhóm có nồng độ từ 40 - 60% là 5,1 lần với $p < 0,01$.
- Nguy cơ xuất huyết ở người có nồng độ yếu tố VIII từ 40 - 60% cao hơn ở người có nồng độ yếu tố VIII > 60% là 8,7 lần với $p < 0,01$.

Bảng 3.35. Liên quan giữa nồng độ yếu tố VIII với rong kinh và chảy máu sau đẻ

Triệu chứng	Rong kinh			Chảy máu sau đẻ		
	Có	Không	OR	Có	Không	OR
Nồng độ yếu tố VIII < 40%	17	23	3,5 ($p < 0,05$)	16	24	4,2 ($p < 0,05$)
Nồng độ yếu tố VIII ≥ 40%	19	91		15	95	

Nhận xét:

Ở người mang gen có yếu tố VIII < 40%, nguy cơ rong kinh và chảy máu sau đẻ cao hơn so với người có nồng độ yếu tố VIII ≥ 40% lần lượt là 3,5 lần và 4,2 lần với $p < 0,05$.

Chương 4

BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm của bệnh nhân gốc

4.1.1. Về tuổi và giới

Tất cả các bệnh nhân gốc của trong nghiên cứu đều là nam giới. Điều này phù hợp với quy luật di truyền của bệnh là do gen lặn, nằm trên nhiễm sắc thể giới tính X gây nên. Tuổi trung bình của bệnh nhân gốc là $19,9 \pm 15,9$ tuổi, tương đương với tuổi trung bình của bệnh nhân hemophilia được quản lý tại trung tâm là $24,1 \pm 13,3$ tuổi trong nghiên cứu của Nguyễn Anh Trí và cộng sự năm 2005 [75].

4.1.2. Về tỉ lệ có tiền sử gia đình

Mặc dù hemophilia là bệnh lí di truyền tuy nhiên người ta nhận thấy có khoảng 1/3 bệnh nhân không có tiền sử gia đình, có nghĩa là trong gia đình chỉ có bệnh nhân là người duy nhất mắc bệnh. Điều này được cho là do đột biến có từ các đời trước nhưng chưa thể hiện, đến bệnh nhân mới thể hiện bệnh hoặc đột biến xuất hiện từ mẹ truyền cho bệnh nhân, hoặc do đột biến mới từ chính bản thân bệnh nhân và được gọi là hemophilia đơn phát [6], [49]. Theo số liệu của trung tâm Hemophilia Viện Huyết học – Truyền máu TW thì năm 2005 tỉ lệ bệnh nhân có tiền sử gia đình là 49,8% [75] và năm 2017 là 60,8%. Tác giả C.K. Kasper khi nghiên cứu 731 phá hệ của bệnh nhân hemophilia cho thấy tỉ lệ có tiền sử gia đình là 54% và không có tiền sử gia đình là 46% [55]. So với các nghiên cứu này thì tỉ lệ có tiền sử gia đình của các bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn (79%). Lí do là bởi các bệnh nhân và thân nhân của họ trong gia đình có tiền sử quan tâm hơn đến cơ chế di truyền của bệnh, lo lắng hơn đến tình trạng bị bệnh và mang gen bệnh của các thành viên trong gia đình do đó dễ chấp nhận tham gia nghiên cứu hơn so với những gia đình chỉ có một bệnh nhân duy nhất.

4.1.3. Về mức độ bệnh

Trong nghiên cứu này, phần lớn bệnh nhân thuộc mức độ nặng. So với tỉ lệ bệnh nhân mức độ nặng của các tác giả khác thì cao hơn, lí do là bởi ảnh hưởng của bệnh lên bệnh nhân và gia đình bệnh nhân nặng hơn nên bệnh nhân và người nhà sẵn sàng và hợp tác tham gia nghiên cứu hơn so với bệnh nhân mức độ trung bình và mức độ nhẹ.

Bảng 4.1. Tỉ lệ bệnh nhân theo mức độ bệnh trong một số nghiên cứu

Tên tác giả	Năm	Nặng		Trung bình		Nhẹ	
		n	%	n	%	n	%
Cung Thị Tý [58]	1997	38	25	54	35,52	60	39,47
Nguyễn Anh Trí [75]	2006	18	5,4	190	56,7	127	37,9
Nguyen Thi Mai [76]	2016		48,5		26,8		24,7
Chúng tôi	2017	76	76	9	9	15	15

4.1.4. Về đặc điểm tổn thương di truyền

Trong nghiên cứu này, các bệnh nhân gốc mức độ nặng đều được sàng lọc đoạn intron 22 và intron 1 là các đột biến hay gặp nhất ở bệnh nhân hemophilia A mức độ nặng, kết quả có 30,3% bệnh nhân có đảo đoạn intron 22 và 1,3% có đảo đoạn intron 1. Tỉ lệ này tương đương với nghiên cứu của Nguyễn Thị Mai năm 2014 trên 260 bệnh nhân (là 31,51% và 1,26%) [64] và với các tác giả khác trên thế giới như Yan ZY (Trung Quốc) [77], AM. Cumming (Anh) [78], Johanna Milena Mantilla-Capacho (Mexico) [79].

Trong số 9 người bao gồm 6 bệnh nhân nặng không có đảo đoạn intron 22 và intron 1, 1 bệnh nhân mức độ trung bình và 2 bệnh nhân mức độ nhẹ có 8 người tìm được đột biến gen yếu tố VIII bằng phương pháp giải trình tự gen chiếm tỉ lệ 89,9%. Có 1/9 người (11,1%) không phát hiện được đột biến gen, tỉ lệ này cao hơn so với nghiên cứu của Anne Goodeve

[80] là 2 – 7% nhưng tương đương với nghiên cứu của Maurizio Margaglione (11%) [81]. Kết quả phân tích di truyền này sẽ được sử dụng để đánh giá giá trị xác định tình trạng mang gen cho các thành viên nữ trong gia đình bằng phương pháp phân tích phả hệ và phân tích yếu tố đông máu.

4.2. Về việc phát hiện bệnh nhân mới và người mang gen dựa vào phân tích phả hệ

Từ 100 bệnh nhân hemophilia A đã được chẩn đoán, bằng việc khai thác thông tin, hỏi tiền sử đã xây dựng được 100 phả hệ. Phần lớn trong số này (58%) có thể khai thác được thông tin trong vòng 4 thế hệ, 11% khai thác được 5 thế hệ và 30% khai thác được 3 thế hệ. 1 dòng họ duy nhất khai thác được 7 thế hệ thuộc mức độ nhẹ, có nhiều người bị bệnh. Tác giả Monica Singh và H. Kaur (Ấn Độ) khi nghiên cứu 85 phả hệ của bệnh nhân hemophilia cho thấy số dòng họ khai thác được 4 thế hệ chiếm nhiều nhất là 50 (58,8%), tiếp đến là 3 thế hệ (27 dòng họ chiếm 31,7%); có trường hợp chỉ khai thác được 1 thế hệ [57]. Việc có được thông tin để lập phả hệ phụ thuộc rất lớn vào người cung cấp, thông thường phải chọn được người có tuổi, nắm được quan hệ giữa các thành viên trong gia đình, có khả năng tập hợp các thành viên lại với nhau đồng thời đòi hỏi sự kiên nhẫn của người khai thác vì để lập được phả hệ của một dòng họ lớn có nhiều người, nhiều thế hệ đôi khi phải liên hệ nhiều lần (trực tiếp hoặc qua điện thoại), tốn nhiều thời gian [50]. Bên cạnh đó việc duy trì mối quan hệ cũng như sự hợp tác giữa các cá nhân trong gia đình, dòng họ cũng là một yếu tố quan trọng góp phần vào thành công của việc lập phả hệ.

Phân tích 2343 thành viên có quan hệ huyết thống trong phả hệ chúng tôi thấy tỉ lệ nam và nữ là tương đương (1177 nam/1166 nữ = 1/1), điều này phù hợp với quy luật di truyền giới tính. Dựa vào cơ chế di truyền của bệnh xác

định được 869 nam giới và 1129 nữ giới có liên quan đến hemophilia chiếm tỉ lệ lần lượt là 73,8% và 96,8%. Tính trung bình mỗi phá hệ có $8,7 \pm 5,9$ người nam và $11,3 \pm 8,0$ người nữ có liên quan. Đây là những người có nguy cơ bị bệnh và mang gen rất lớn vì vậy rất cần được làm xét nghiệm chẩn đoán và tư vấn để tránh được các biến chứng do chẩn đoán muộn gây ra cũng như giúp những thành viên này chủ động trong việc kết hôn, sinh đẻ và kế hoạch hóa gia đình.

Có 9 gia đình được nhóm nghiên cứu về tận nhà để khám bệnh, tư vấn và lấy mẫu. Giữa việc tổ chức đoàn đến tận nhà và việc chẩn đoán tại bệnh viện thì việc tổ chức đoàn đến tận nhà có nhiều ưu điểm: Tập hợp được nhiều thành viên trong gia đình cùng một lúc do đó tiếp cận được nhiều người có liên quan đến bệnh; Có thể kết hợp tư vấn cho bệnh nhân, người nhà và nhân viên y tế tuyến cơ sở về hemophilia; Xây dựng được mối quan hệ giữa trung tâm hemophilia và y tế cơ sở, là tiền đề cho sự phối hợp trong chăm sóc và quản lý bệnh nhân và người mang gen sau này; Giúp y tế cơ sở và chính quyền địa phương hiểu và tạo điều kiện thuận lợi về chính sách cho người bệnh.

Mặc dù có nhiều ưu điểm như vậy nhưng trong một số trường hợp việc tổ chức đoàn về gia đình cũng còn gặp một số khó khăn như:

a. Một số thành viên trong gia đình, đặc biệt những dòng họ lớn có nhiều người bị bệnh cho rằng đây là bệnh di truyền nên nếu nhiều người được chẩn đoán sẽ làm cho gia đình, dòng họ bị xa lánh, kì thị, khó kết hôn vì vậy không đồng ý cho đoàn đến thăm nhà. Hiện tượng này không chỉ gặp ở Việt Nam mà còn gặp ở nhiều nước trên thế giới nơi mà dân trí chưa cao và chất lượng sống của người bệnh hemophilia còn thấp [50].

b. Các thành viên trong gia đình sống tản mát, một số đi làm ăn xa hoặc vì lí do riêng trong gia đình mà không tập hợp được.

c. Bệnh nhân gốc (bệnh nhân hemophilia đã được chẩn đoán) còn dấu

bệnh và chưa thông báo với gia đình tình hình bệnh tật của mình.

Để khắc phục, chúng tôi đã tăng cường việc tư vấn cho bệnh nhân và người nhà về tầm quan trọng của việc được chẩn đoán và điều trị sớm để họ hợp tác trong việc tìm kiếm, phát hiện bệnh nhân và người mang gen trong gia đình, sắp xếp thời điểm lấy mẫu hợp lí đồng thời chủ động mời các đối tượng có khả năng bị bệnh và mang gen trong gia đình trực tiếp đến bệnh viện sau khi đã phân tích phả hệ và sàng lọc bằng bộ câu hỏi.

4.2.1. Phát hiện bệnh nhân mới:

Kết hợp phân tích phả hệ và sử dụng bảng hỏi cho thấy có 242 người có biểu hiện chảy máu bất thường chiếm tỉ lệ 27,8% tổng số nam giới có liên quan. Những người này được coi là người nghi ngờ mắc hemophilia. Bên cạnh đó, do biểu hiện chảy máu của bệnh nhân mức độ nhẹ thường kín đáo, đa số phát hiện được sau chấn thương mạnh hoặc sau phẫu thuật vì vậy đối với 105 người có khả năng mắc bệnh thuộc gia đình bệnh nhân mức độ nhẹ mà chưa phát hiện được triệu chứng bất thường chảy máu chúng tôi cũng xếp vào diện nghi ngờ mắc bệnh. Kết quả là có 347 người nghi ngờ mắc hemophilia được phát hiện. Trong số này có 76 người có triệu chứng chảy máu bất thường đã tử vong, vì vậy con số bệnh nhân nghi ngờ mắc hemophilia còn sống chưa được chẩn đoán là 271 người.

Bảng 3.6 cho thấy số người nghi ngờ mắc bệnh được xét nghiệm chiếm tỉ lệ 73,4% trong đó tỉ lệ người có biểu hiện chảy máu được xét nghiệm nhiều hơn người không có biểu hiện chảy máu. Lí do là bởi ở những gia đình mức độ nhẹ triệu chứng thường kín đáo, ít ảnh hưởng đến cuộc sống của bệnh nhân và thân nhân hơn nên các thành viên ít quan tâm đến việc sàng lọc khả năng bị bệnh hơn. Bên cạnh đó do sức khỏe của các thành viên này chưa bị ảnh hưởng bởi hemophilia vì vậy họ có khả năng đi làm xa nhiều hơn so với

những người mức độ trung bình và nặng. Bảng 3.7 cho thấy trong số 145 người có biểu hiện chảy máu bất thường, tất cả đều có kết quả xét nghiệm khẳng định bị bệnh và chỉ có 2 trường hợp chiếm tỉ lệ 3,7 % không có biểu hiện chảy máu bất thường nhưng bị bệnh. Điều này chứng tỏ bảng câu hỏi sàng lọc rất có ý nghĩa trong việc khu trú đối tượng làm xét nghiệm, giúp tiết kiệm được chi phí, đặc biệt là trong các gia đình bệnh nhân mức độ trung bình và mức độ nặng. Mặc dù vậy, trên thực tế có thể có trường hợp cố tình khai có triệu chứng chảy máu để được xét nghiệm khẳng định bệnh, đặc biệt khi được xét nghiệm miễn phí. Hiện tượng này đã gặp ở Venezuela khi tiến hành chiến dịch phát hiện bệnh nhân mới [50]. 2 trường hợp thuộc gia đình mức độ nhẹ bị bệnh nhưng lâm sàng không có biểu hiện chảy máu bất thường, có thể do họ chưa bị chấn thương và trải qua phẫu thuật nên triệu chứng chưa bộc lộ. Chính vì vậy đối với những thành viên trong gia đình mức độ nhẹ, để không bỏ sót bệnh nhân thì nên làm xét nghiệm cho cả những người có liên quan mà không có triệu chứng chảy máu.

Bảng 3.5, 3.8 và 3.9 cho thấy trong số 242 người có biểu hiện chảy máu bất thường có 76 người đã tử vong chiếm 31,4%, đa số thuộc các gia đình hemophilia mức độ nặng (77,6%). Phần lớn trong số họ tử vong sớm (tuổi thọ trung vị 12,5 tuổi) vào thời điểm trước khi được chẩn đoán, những người thuộc gia đình mức độ nặng và trung bình tử vong sớm hơn những người thuộc gia đình mức độ nhẹ, nguyên nhân tử vong đa số liên quan đến chảy máu không được điều trị. Điều này phù hợp với đặc điểm của bệnh. Chảy máu sau chấn thương/tai nạn, xuất huyết tiêu hóa và xuất huyết não là những chảy máu nặng trên lâm sàng và là nguyên nhân gây tử vong nhiều nhất cho các bệnh nhân. Chảy máu răng miệng thường được coi là chảy máu nhẹ nhưng cũng đã gây tử vong cho 9,5% bệnh nhân. So với các bệnh nhân hemophilia

đã được chẩn đoán và điều trị tại trung tâm Hemophilia đã tử vong thì tuổi thọ của những người đã tử vong trong nghiên cứu của chúng tôi là thấp hơn (17,52 so với 32,3 tuổi) [82], lí do là bởi đa số họ chưa từng được chẩn đoán vì vậy chưa được tư vấn và điều trị. Bảng 4.2 cho thấy sự khác nhau về số người tử vong có biểu hiện chảy máu bất thường trong các nghiên cứu.

Bảng 4.2. Tỷ lệ người đã tử vong có biểu hiện chảy máu bất thường trong các nghiên cứu

Tác giả	Số phá hệ nghiên cứu	Số người có khả năng bị hemophilia	Người có biểu hiện chảy máu bất thường đã tử vong		Tuổi thọ trung bình của người đã tử vong
			n	%	
Chúng tôi	100	358	76	21,2	12,5 tuổi
Trần Thị Phương Túy (Huế) [83]	12	67	30	44,77	< 15 tuổi
Krasaesub S và A. Chuansumrit (Thái Lan) [84],[85]	134	139	103	74,1	8 tuổi 9 tháng

Năm 2007, Trần Thị Phương Túy khi nghiên cứu 12 dòng họ tại khu vực miền Trung với 67 bệnh nhân thấy có 30 người đã tử vong vì chảy máu chiếm tỉ lệ 44,77%, trong số họ có 80% có tuổi thọ dưới 15 tuổi và không thấy liên quan giữa mức độ nặng của bệnh với số bệnh nhân tử vong trong dòng họ [83]. Nghiên cứu trên 134 gia đình hemophilia được quản lí tại trung tâm điều trị Hemophilia bệnh viện Ramathibodi Bangkok năm 2001, bằng khai thác tiền sử gia đình, Krasaesub S. và A. Chuansumrit đã thống kê được có 103 người trên tổng số 139 nam giới (chiếm 74,1%) có khả năng bị hemophilia đã tử vong do chảy máu ở độ tuổi trung bình là 8 tuổi 9 tháng [84],[85]. Theo các tác giả Evatt và Robillard, nếu một bệnh nhân hemophilia không được chẩn đoán và điều trị thường tử vong sớm trước 13 tuổi; số lượng bệnh nhân của một quốc gia và tuổi thọ của bệnh nhân liên quan chặt chẽ với điều kiện kinh

tế và chất lượng chăm sóc y tế của quốc gia đó: Ở cùng một điều kiện kinh tế, nếu được chăm sóc tại trung tâm hemophilia bởi bác sĩ chuyên khoa thì tỉ lệ bệnh nhân sống đến tuổi trưởng thành cao hơn gấp 5 lần so với nếu không được chăm sóc tại trung tâm hemophilia [86]. Nguyên nhân của sự khác biệt giữa nghiên cứu của chúng tôi và của Trần Thị Phương Túy có thể do cỡ mẫu của chúng tôi lớn hơn, đại diện hơn và có sự khác biệt về kiến thức về hemophilia của người bệnh, gia đình, cộng đồng và nhân viên y tế cũng như điều kiện chăm sóc y tế giữa các vùng miền.

Bảng 3.10 cho thấy phần lớn bệnh nhân mới được phát hiện cùng thế hệ và sau 1 thế hệ với bệnh nhân gốc, có thể lí giải bởi số người mắc bệnh thuộc thế hệ trước do không được chẩn đoán và điều trị đã bị chết sớm. Điều này cũng cho thấy sự cần thiết của việc tư vấn đối với những bệnh nhân đã được chẩn đoán và người thân của họ nhằm hạn chế sinh ra những cá thể bị bệnh cũng như phối hợp để phát hiện sớm bệnh nhân mới trong gia đình.

Như vậy, từ 100 bệnh nhân gốc, qua phân tích phả hệ, hỏi tiền sử cho 869 nam giới là thân nhân của các bệnh nhân này và xét nghiệm 199 người đã phát hiện ra 147 mới còn sống chiếm tỉ lệ 16,9% và 76 người nghi ngờ bị bệnh đã tử vong. Số bệnh nhân mới này so với tổng số bệnh nhân ước tính trên toàn quốc là 6185 người chiếm tỉ lệ tới 2,4%. Do đây là bệnh lí hiếm gặp (25 - 60 người/1 triệu dân tại Việt Nam [58]), tỉ lệ lại không khác nhau giữa các vùng địa lí và chủng tộc người nên nếu tiến hành tìm kiếm theo phương pháp dịch tễ thông thường thì cần phải sàng lọc ít nhất 2,45 triệu người mới có thể phát hiện được số bệnh nhân hemophilia mới tương đương. Tác giả Cung Thị Tý năm 1997 sau khi nghiên cứu trên 34.830 người dân 3 tỉnh Hà Nội, Bắc Thái, Thừa Thiên Huế bằng phương pháp phân tầng, chọn ngẫu nhiên đã phát hiện 2 trường hợp bị hemophilia [58]. Nghiên cứu pilot “*Sàng lọc hemophilia tại Bắc Giang và Hải Phòng*” theo phương pháp dịch tễ thông thường đã tiến hành sàng lọc trên 20.000 người tại Bắc Giang và Hải Phòng bằng câu hỏi

phỏng vấn, làm xét nghiệm máu cho 125 người có biểu hiện chảy máu bất thường, kết quả là không phát hiện được bệnh nhân hemophilia mới nào [59],[60]. Rõ ràng, với mục đích phát hiện bệnh nhân mới thì việc dựa theo cơ chế di truyền, phân tích phả hệ của bệnh nhân hemophilia phát hiện bệnh nhân mới cho thấy có hiệu quả hơn rất nhiều. Tuy nhiên, đối với những gia đình hemophilia đơn phát (chỉ có một bệnh nhân duy nhất, không phát hiện được tiền sử chảy máu bất thường trong gia đình) thì cần quan tâm và theo dõi những đối tượng có khả năng mắc bệnh cùng thế hệ hoặc sau thế hệ với bệnh nhân.

Bảng 4.3. Tỷ lệ phát hiện bệnh nhân mới trong một số nghiên cứu

Tác giả	Cung Thị Tý [58]	Dương Bá Trực [59],[60]	Chúng tôi
Phương pháp	Phân tầng, chọn ngẫu nhiên	Dịch tễ thông thường	Lần theo dấu vết
Số lượng người sàng lọc	34830	> 20000	869
Số bệnh nhân hemophilia mới được chẩn đoán	2	0	147
Tỷ lệ %	0,00574	0	16,9

4.2.2. Phát hiện người mang gen bệnh

4.2.2.1. Phát hiện người mang gen bệnh dựa vào phân tích phả hệ

Trong số 1129 thành viên nữ có liên quan đến hemophilia trong 100 dòng họ khai thác được thông tin của 533 người, chiếm tỷ lệ 47%. Trên thực tế, mặc dù có quan hệ huyết thống nhưng để có được thông tin về những thành viên nữ trong gia đình, nhóm nghiên cứu phải liên hệ nhiều lần do người phụ nữ sau khi lấy chồng thường ít có thông tin về các thành viên họ hàng bên nhà bố mẹ đẻ, đặc biệt khi họ lấy chồng hoặc làm ăn xa. Vì vậy để

có được thông tin cần thiết thì việc tìm được người trong gia đình có thể liên hệ, kết nối là khâu hết sức quan trọng.

Trong số 533 người nữ có thông tin xác định được 329 người chiếm tỉ lệ 61,7% chắc chắn mang gen và 204 người chiếm tỉ lệ 38,3% có khả năng mang gen. M. Singh năm 2002 khi nghiên cứu trên 37 phả hệ của bệnh nhân hemophilia có tiền sử gia đình đã xác định được có 130 người chắc chắn mang gen trong số 425 người phụ nữ có liên quan chiếm tỉ lệ 30,58% [57]; còn trong nghiên cứu của Carol Kasper và cộng sự năm 2010 tại Mỹ thì tỉ lệ này là 56,14% [55], của Bùi Thị Thu Hương là 26% [66]. So với các tác giả trên thì tỉ lệ người mang gen được xác định trong nghiên cứu của chúng tôi là cao hơn (bảng 4.4).

Bảng 4.4. Tỉ lệ phát hiện người chắc chắn mang gen dựa vào phân tích phả hệ trong một số nghiên cứu

Tác giả	Số phả hệ phân tích	Số người phụ nữ có liên quan	Số người chắc chắn mang gen	Số người có khả năng mang gen
Carol Kasper [55]	731		56,14%	
Shristi Shetty [56]	102		99 (34,4%)	189
M. Singh [57]	37	425	130 (30,58%)	259 (69,42%)
Bùi Thị Thu Hương [66]		166	43 (26%)	123 (74%)
Chúng tôi	100	533	329 (61,7%)	204 (38,3%)

Những người chắc chắn mang gen được chẩn đoán đa số là người đã có con, trong đó, tỉ lệ người thuộc nhóm có 1 con và 1 thành viên khác trong gia đình bị hemophilia chiếm cao nhất là 47,4%, người có từ 2 con bị bệnh trở lên chiếm 14,9%, chỉ có 3,3% thuộc nhóm có 1 con bị bệnh và có ít nhất một người trong gia đình được chẩn đoán mang gen. Điều này cho thấy hiểu biết

về cơ chế di truyền của các thành viên trong gia đình bệnh nhân còn hạn chế, dẫn tới chưa chủ động phòng tránh sinh ra thế hệ sau bị bệnh trong khi gia đình đã có thành viên mắc hemophilia. Có 113 người là con của bố bị hemophilia chiếm tỉ lệ 34,3% trong đó 52 người chưa có con.

Đa số những người có khả năng mang gen là người có thành viên trong gia đình bị bệnh (89,7%). Có 21 người chiếm tỉ lệ 10,3% là mẹ của bệnh nhân hemophilia trong gia đình đơn phát. Những người này cùng với những người mang gen chưa có con rất cần được chẩn đoán, tư vấn di truyền để chủ động trong quá trình sinh đẻ, hạn chế sinh ra cá thể bị bệnh cho đời sau.

Bảng 3.13 cho thấy trung bình mỗi phả hệ phát hiện được 3,3 người chắc chắn mang gen, dao động từ 0 – 22 người trong đó những gia đình không có tiền sử gia đình thì không phát hiện được người mang gen nào khác ngoài những người có bố bị bệnh. Tỉ lệ phát hiện của chúng tôi tương đương với của tác giả Carold Kasper (3,95 người/phả hệ) [55] và M.Singh (3,51 người/phả hệ) [57].

Theo Alison Street và cộng sự năm 2008, ước tính ứng với mỗi 1 bệnh nhân hemophilia có khoảng 5 người mang gen [3]. Tính trên số bệnh nhân bị hemophilia trong gia đình thì tỉ lệ phát hiện người mang gen trong nghiên cứu của chúng tôi là thấp hơn, lí do là bởi tỉ lệ người phụ nữ có khả năng mang gen được tiếp cận trong nghiên cứu này mới chỉ là 47% (biểu đồ 3.2) trong khi số người nghi ngờ mắc bệnh được tiếp cận chẩn đoán lên tới 73,4% (bảng 3.6). Trong một nghiên cứu trên 549 phụ nữ chắc chắn mang gen và có khả năng mang gen hemophilia tại Hà Lan, Varekamp và cộng sự đã chỉ ra có tới 19% không thấy các thành viên trong gia đình thảo luận về cơ chế di truyền của bệnh và 14% không biết gì về cơ chế di truyền [87]. Fleming (Mỹ) năm 2006 có kế hoạch tiến hành xác định tình trạng mang gen và tư vấn di truyền cho những người phụ nữ thuộc 81 gia đình bệnh nhân hemophilia, tuy nhiên chỉ có 43 người đại diện cho 13 gia đình tham gia [88]. Điều này chứng tỏ sự quan tâm, hiểu biết của các thành viên trong gia đình về cơ chế di truyền còn thấp và còn có nhiều người mang gen trong gia đình chưa được phát hiện, do đó cần đẩy mạnh tuyên truyền, giáo dục cũng như phối

hợp nhiều phương pháp để có thể xác định nhiều nhất những người mang gen trong các gia đình này.

Bảng 3.13 cũng cho thấy ở gia đình bệnh nhân mức độ nặng phát hiện được ít người mang gen hơn gia đình bệnh nhân mức độ trung bình và mức độ nhẹ. Điều này có thể lí giải bởi gia đình bệnh nhân hemophilia mức độ nặng có nhiều người chết vì chảy máu kéo dài, chất lượng sống của người bệnh và thân nhân thấp nên ảnh hưởng đến việc quyết định sinh đẻ của các thành viên khác trong gia đình dẫn tới có ít người mang gen hơn. Trong nghiên cứu trên 128 phụ nữ mang gen hemophilia mức độ nặng và trung bình tại Thụy Điển, U.Tedgard và cộng sự nhận thấy những người không lựa chọn chẩn đoán trước sinh thường không đẻ tiếp sau khi có một con bị bệnh, và họ có ít con hơn hẳn so với nhóm có lựa chọn chẩn đoán trước sinh và nhóm phụ nữ bình thường [89].

Bảng 3.14 cho thấy người mang gen thuộc các thế hệ: trước 1 thế hệ (mẹ, chị em của mẹ - 39,2%), cùng thế hệ (chị em ruột, chị em họ – 22,2%) với bệnh nhân chiếm tỉ lệ cao nhất. Trong nghiên cứu của Carol Kasper, người mang gen chủ yếu trước bệnh nhân 1 thế hệ (62,4%) và cùng thế hệ với bệnh nhân (34,07%) [55], cao hơn so với trong nghiên cứu của chúng tôi nhưng tỉ lệ người mang gen sau 1 thế hệ với bệnh nhân (cháu gọi là cậu) lại thấp hơn (chỉ là 5,9% so với 21%). Có thể lí giải sự khác biệt này bởi sự can thiệp của các biện pháp tư vấn và chẩn đoán người mang gen và chẩn đoán trước sinh đã giúp giảm tỉ lệ người mang gen ở các thế hệ sau trong nghiên cứu của Kasper. Điều này cũng cho thấy vai trò của việc chẩn đoán và tư vấn di truyền trong việc kiểm soát sự phát tán của gen bệnh và việc cần thiết phải đẩy mạnh tuyên truyền, giáo dục cho các thành viên trong gia đình bệnh nhân hemophilia.

4.2.2.2. Phối hợp các phương pháp phát hiện người mang gen ở người có khả năng mang gen

a. Phân tích di truyền

Qua các phân tích trên cho thấy phân tích phả hệ là biện pháp rất hiệu

quả để xác định tình trạng chắc chắn mang gen và có khả năng mang gen cho những phụ nữ có quan hệ huyết thống với bệnh nhân hemophilia. Đối với người có khả năng mang gen, bằng các phương pháp phân tích di truyền có thể chẩn đoán được chính xác tình trạng có mang gen hay không mang gen bệnh, đây là tiêu chuẩn vàng, là cơ sở để tư vấn di truyền và chẩn đoán trước sinh. Bảng 3.15, 3.16 và 3.17 cho thấy tỉ lệ người mang gen được chẩn đoán bằng phân tích trực tiếp tổn thương gen *F8* là 42,3% và bằng phân tích gián tiếp là 47,1% tính trên số người được phân tích bằng mỗi phương pháp, đã có thêm 38 người mang gen được chẩn đoán (chiếm tỉ lệ lần lượt là 5,6% và 1,5% tổng số phụ nữ có liên quan), nâng số người mang gen mới được chẩn đoán lên 367 người. Bên cạnh đó, phân tích di truyền cũng phát hiện được 50 người không mang gen. Điều này rất có ý nghĩa, giúp người phụ nữ và gia đình họ giải tỏa tâm lí và chủ động trong cuộc sống. Tuy nhiên, để phát hiện người mang gen bằng phân tích trực tiếp gen yếu tố VIII thì cần biết được tổn thương di truyền của bệnh nhân gốc vì vậy cần có máy móc, trang thiết bị hiện đại cũng như nhân lực để làm xét nghiệm do vậy chi phí cũng cao hơn, thời gian tiến hành cũng lâu hơn, bên cạnh đó cũng có trường hợp không xác định được đột biến ở bệnh nhân gốc. PCR-RFLP là phương pháp đánh dấu nhiễm sắc thể bị bệnh gián tiếp qua các marker đa hình, tương đối dễ làm và rẻ tiền. Hiệu quả chẩn đoán của phương pháp tùy thuộc vào tỉ lệ dị hợp tử của marker sử dụng trong đó *BclI* là marker được cho là có hiệu quả trong phân tích tình trạng mang gen yếu tố VIII ở người Việt Nam với tỉ lệ dị hợp tử lí thuyết là 48% [62]. Bên cạnh đó, để tiến hành được phương pháp này thì gia đình người cần được chẩn đoán phải thỏa mãn điều kiện: có mẹ mang gen và dị hợp tử với marker phân tích, có đủ mẫu máu của các thành viên có liên quan. Trong nghiên cứu của chúng tôi chỉ có 15 gia đình chiếm tỉ lệ 55,6% thỏa mãn cả hai điều kiện trên. Điều này cho thấy rất cần phối hợp các phương pháp để có thể phát hiện tối đa người mang gen và phân tích phả hệ là phương pháp đầu tiên cần sử dụng để khu trú đối tượng làm xét nghiệm, tránh lãng phí về kinh phí và thời gian không cần thiết.

b. Phân tích tỉ số VIII/vWF:Ag

Tỉ số VIII/vWF:Ag được sử dụng như một công cụ giúp chẩn đoán tình trạng mang gen ở người phụ nữ kể từ năm 1970. Do hemophilia là bệnh lí hiếm gặp vì vậy trong các nghiên cứu tương tự trên thế giới, cỡ mẫu tối thiểu 30 được coi là có giá trị [35],[36],[37],[41]. Kết quả bảng 3.19 cho thấy nồng độ yếu tố VIII ở nhóm người mang gen thấp hơn rõ rệt so với nhóm người bình thường (49,9% so với 81,4%) trong khi nồng độ yếu tố von Willebrand là không khác nhau. Điều này dẫn tới tỉ số VIII/vWF:Ag ở nhóm người mang gen thấp hơn so với nhóm người bình thường (0,59 so với 0,95). Kết quả này cũng tương tự như kết quả của nhiều nghiên cứu khác trong bảng 4.5.

Bảng 4.5. Kết quả nồng độ yếu tố đông máu ở người mang gen và người bình thường trong một số nghiên cứu

		Ay C (Áo) [90]	T.Rucchutrakool [41] (Thái lan)	Veerle Labarque [91] (Canada)	Chúng tôi
Yếu tố VIII	Người mang gen	74 (51 - 103) n = 42	48,0 ± 21,9 n = 52		49,9 ± 19,6 n = 83
	Nhóm chứng	142 (109 - 169) n = 42	98,7 ± 38,6 n = 22		81,4 ± 27,9 n = 70
	p	< 0,01	< 0,01		< 0,05
vWF:Ag	Người mang gen	118 (100-144)	115,7 ± 52,9		86,2 ± 23,5 n = 83
	Nhóm chứng	126 (101-163)	92,5 ± 49,3		85,4 ± 30,3 n = 70
	p	= 0,507			> 0,05
Tỉ số VIII/vWF:Ag	Người mang gen		0,45 ± 0,19	0,7 (0,18 – 2,2) n = 146	0,59 ± 0,22 n = 83
	Nhóm chứng		1,14 ± 0,3	1,37 (0,58 – 2,48) n = 26	0,95 ± 0,21 n = 70
	p			< 0,01	< 0,05
	Tỉ số ngưỡng			0,8	0,71

Sử dụng thuật toán tính diện tích dưới đường cong của tỉ số VIII/vWF:Ag ở người phụ nữ bình thường và người phụ nữ mang gen bệnh chúng tôi có diện tích dưới đường cong ROC là 0,89 hoặc là 89% với $p < 0,05$ (biểu đồ 3.5), như vậy, tỉ số VIII/vWF:Ag có giá trị khá tốt trong việc xác định tình trạng mang gen. Vấn đề là cần tìm giá trị ngưỡng có độ nhạy và độ đặc hiệu cao nhất để một người có khả năng mang gen có tỉ số VIII/vWF:Ag dưới ngưỡng đó sẽ là người mang gen bệnh.

Bảng 3.20 cho thấy với ngưỡng 0,71 tương ứng với độ nhạy là 90% và độ đặc hiệu là 78,3% cho chỉ số J (J là giá trị cao nhất của tổng độ nhạy và độ đặc hiệu trừ đi 1) = 0,683 cao nhất. Chính vì vậy chúng tôi chọn giá trị ngưỡng của tỉ số VIII/vWF:Ag là 0,71 để xác định tình trạng mang gen cho người phụ nữ có khả năng mang gen.

Áp dụng cho 159 người có khả năng mang gen xác định được 72 người chiếm tỉ lệ 45% có tỉ số VIII/vWF:Ag $< 0,71$, những người này được xác định là mang gen hemophilia A. Kết quả chẩn đoán tình trạng mang gen bằng phân tích di truyền (trực tiếp và gián tiếp) cũng được sử dụng như một tiêu chuẩn vàng cho 88 người thỏa mãn điều kiện, kết quả cho thấy tỉ số VIII/vWF:Ag xác định đúng tình trạng mang gen cho 86,84% trường hợp và xác định nhầm 4 trường hợp chiếm tỉ lệ 8% (bảng 3.21).

Chúng ta biết rằng nhược điểm của phương pháp sử dụng tỉ số VIII/vWF:Ag để chẩn đoán tình trạng mang gen bệnh là trong một số trường hợp không thể kết luận được tình trạng mang gen của người phụ nữ có liên quan khi giá trị của tỉ số ở xung quanh ngưỡng; đồng thời nếu một người phụ nữ có liên quan có tỉ số cao cũng không thể loại trừ được 100% khả năng mang gen của người phụ nữ này. 87 người có khả năng mang gen còn lại có tỉ số $\geq 0,71$ không khẳng định được tình trạng mang gen. Chính vì vậy việc phối hợp với phân tích di truyền giúp hạn chế được những nhược điểm của phương

pháp này. Sơ đồ 3.6, hình 3.1 và sơ đồ 3.7 cho thấy hiệu quả của việc chẩn đoán tình trạng mang gen khi phối hợp các phương pháp với nhau trong gia đình số 55. Sau khi người mẹ III:8 được khẳng định có mang gen, thai nhi đã được chẩn đoán trước sinh, kết quả thai nhi bị bệnh và đã được tư vấn đình chỉ thai nghén. Còn việc xác định III:5 không mang gen cũng rất có ý nghĩa, giúp cho thành viên này giải tỏa được tâm lý và có thể chủ động trong việc kết hôn và sinh đẻ, góp phần nâng cao chất lượng sống.

Trong một nghiên cứu đa trung tâm, các tác giả đã nhận thấy rằng tỉ số VIII/vWF:Ag và việc chọn ngưỡng áp dụng cho chẩn đoán người mang gen rất khác nhau và cần tiến hành ở mỗi phòng xét nghiệm [38]. S.Shetty năm 1999 đã xác định được ngưỡng trên người Ấn Độ là 0,7. Với giá trị này, so với kết quả phân tích di truyền thì tỉ lệ chẩn đoán nhầm chiếm thấp nhất là 7% tổng số người mang gen và tất cả người bình thường đều có tỉ số cao hơn ngưỡng [92]. Bảng 4.6 cũng cho thấy giá trị ngưỡng của tỉ số VIII/vWF:Ag trong một số nghiên cứu khác. Như vậy là so với kết quả của các tác giả khác thì giá trị của phương pháp chẩn đoán của chúng tôi là tương đương.

Bảng 4.6. Giá trị ngưỡng của tỉ số VIII/vWF:Ag trong chẩn đoán tình trạng mang gen hemophilia A ở một số nghiên cứu

	Giá trị ngưỡng (<)	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)	Giá trị tiên đoán dương (%)
S.Shetty (Ấn Độ)[92]	0,7			
J. Padre (Philippin) [40]	0,6	71	100	
T Ruchutrakool (Thái Lan) [41]	0,82	70	100	
Veerle Labarque (Canada) [91]	0,8			98,9
Chúng tôi	0,71	90	78,3	

Đối với những phụ nữ trong gia đình bệnh nhân hemophilia, được chẩn đoán tình trạng mang gen và chẩn đoán trước sinh là một nhu cầu chính đáng nhằm mục đích sinh ra các thế hệ sau không bị bệnh. Bảng 3.22 mô tả 4 trường hợp chẩn đoán trước sinh và 1 trường hợp chẩn đoán tình trạng mang gen của 4 gia đình bằng phương pháp phân tích PCR-RFLP với *BclII*/intron 18 trong đó có 1 người mẹ mang gen và 3 người mẹ có khả năng mang gen (xác định bằng phân tích phả hệ). Nếu chỉ căn cứ vào phả hệ thì không thể áp dụng phương pháp này cho 3 người mẹ có khả năng mang gen. Tuy nhiên, khi phối hợp với tỉ số VIII/vWF:Ag xác định được cả 3 là người mang gen do có tỉ số VIII/vWF:Ag < 0,71, từ đó xác định được 2 thai nhi bị bệnh, 2 thai nhi không bị bệnh và 1 con gái mang gen. Hai thai nhi bị bệnh được tư vấn đình chỉ thai nghén, hai thai nhi bình thường được tư vấn giữ thai. Riêng gia đình số 54 được kiểm chứng bằng phương pháp giải trình tự gen cho kết quả tương tự đối với mẹ và thai nhi. Tác giả M. Singh năm 2006 trong nghiên cứu của mình cũng cho thấy phối hợp phân tích phả hệ, tỉ số và *BclII*/intron 18 đã làm tăng tỉ lệ có thông tin trong chẩn đoán tình trạng mang gen [93]. M. Pecorara khi phối hợp phân tích phả hệ, tỉ số VIII/vWF:Ag với RFLP đã xác định được đột biến mới xảy ra ở ông ngoại ở 7 trong tổng số 12 gia đình được phân tích [94]. Tác giả R.P. Ahmed cũng nhận thấy tỉ số VIII/vWF:Ag đã làm tăng tỉ lệ có thông tin với marker phân tích liên kết ở những người mẹ và chị bệnh nhân hemophilia lên 65% [95]. Như vậy việc phối hợp phân tích phả hệ với tỉ số VIII/vWF:Ag đã giúp nâng cao khả năng chẩn đoán tình trạng mang gen cho phương pháp PCR-RFLP với *BclII*/intron 18 nói riêng và phân tích di truyền liên kết nói chung.

Như vậy, với sự phát triển của khoa học công nghệ có nhiều phương pháp chẩn đoán người mang gen và chẩn đoán trước sinh hemophilia được triển khai trong đó phân tích di truyền được coi là tiêu chuẩn vàng. Tuy nhiên, mỗi phương pháp đều có ưu điểm và nhược điểm riêng, vì vậy, phối hợp các

phương pháp là một việc vô cùng quan trọng giúp tăng tỉ lệ có thể chẩn đoán tình trạng mang gen hemophilia, đặc biệt trong điều kiện kinh tế còn eo hẹp như ở nước ta hiện nay. Dù chẩn đoán tình trạng mang gen hoặc chẩn đoán trước sinh hemophilia bằng bất cứ phương pháp nào thì bước đầu tiên cũng phải phân tích phả hệ để xác định đối tượng, sau đó tùy thuộc vào từng bệnh nhân gốc cũng như điều kiện, trang thiết bị của từng cơ sở mà lựa chọn phương pháp chẩn đoán phù hợp.

4.3. Đặc điểm của bệnh nhân và người mang gen mới được chẩn đoán

4.3.1. Đặc điểm của bệnh nhân mới

4.3.1.1. Về giới tính

Tất cả bệnh nhân mới của chúng tôi đều là nam giới, điều này phù hợp với quy luật di truyền của bệnh.

4.3.1.2 Về thời điểm được chẩn đoán

Bảng 3.23 cho thấy thời điểm được chẩn đoán trung vị của các bệnh nhân mới là 7 tuổi, người được chẩn đoán sớm nhất là ngay sau sinh, người được chẩn đoán muộn nhất là 81 tuổi. Các bệnh nhân mức độ nhẹ được chẩn đoán muộn hơn các bệnh nhân mức độ nặng và trung bình. Vũ Thị Minh Châu trong nghiên cứu năm 2001 đã cho thấy thời điểm được chẩn đoán lần đầu trung bình là 7,64 tuổi (dao động từ 9 tháng đến 50 tuổi) [96]. Nghiên cứu trên 1496 bệnh nhân hemophilia sinh vào thời điểm 1980 – 1994 tại Pháp, tác giả C. Joussetme nhận thấy thời điểm lần đầu được chẩn đoán của các bệnh nhân trung bình là 13,5 tháng, bệnh nhân càng nặng càng được phát hiện sớm [97]. Bệnh nhân mới của chúng tôi được chẩn đoán tương đối muộn, lí do bởi mặc dầu trong gia đình các bệnh nhân này đã có người được chẩn đoán bệnh từ trước, tuy nhiên, có lẽ do chưa hiểu biết, không hiểu đặc điểm di truyền, khả năng phát tán của gen bệnh cũng như những khó khăn về kinh tế mà người bệnh còn chưa chủ động tìm đến đúng chuyên khoa để được chẩn đoán. Bên cạnh đó có đến 36% bệnh nhân mắc bệnh ở mức độ nhẹ, biểu hiện chảy

máu của họ nhẹ hơn do đó ít bị thôi thúc được chẩn đoán và điều trị hơn. Trong nghiên cứu của chúng tôi có một bệnh nhân là con của một người phụ nữ chắc chắn mang gen được xác định rất sớm ngay sau khi sinh bằng cách định lượng yếu tố VIII từ máu tĩnh mạch rốn. Mẹ của bệnh nhân được xác định là người chắc chắn mang gen do có bố bị hemophilia A. Trong quá trình mang thai, chúng tôi đã theo dõi và định lượng yếu tố VIII định kì cho người phụ nữ này đồng thời phối hợp với chuyên khoa Sản nhằm giảm thiểu tối đa rủi ro cho mẹ và con trong quá trình chuyển dạ. Một nghiên cứu đã chỉ ra rằng có khoảng 0.3% các trường hợp hemophilia bị xuất huyết não liên quan đến quá trình chuyển dạ [3] vì vậy ngoài việc tuyên truyền, đào tạo, tư vấn cho bệnh nhân, người nhà bệnh nhân, nhân viên y tế nhằm phát hiện sớm các trường hợp hemophilia mới thì việc chẩn đoán, quản lí người mang gen, theo dõi trong quá trình mang thai và phối hợp giữa các chuyên khoa Huyết học, Sản, Nhi đóng vai trò rất quan trọng.

4.3.1.3. Về thể bệnh

Mặc dù các bệnh nhân gốc đều là hemophilia A, tuy nhiên trong số bệnh nhân mới ngoài hemophilia A là chủ yếu thì chúng tôi còn phát hiện ra 1 trường hợp hemophilia A kết hợp thiếu yếu tố VII bẩm sinh, 1 trường hợp thiếu yếu tố VII bẩm sinh và 1 trường hợp hemophilia B.

Thiếu yếu tố VII bẩm sinh là bệnh lí rối loạn chảy máu hiếm gặp với tỉ lệ 1/500.000 người. Gen sản xuất yếu tố VII nằm trên cánh dài nhiễm sắc thể 13, di truyền lặn. Biểu hiện lâm sàng của bệnh là thường chảy máu ở những cơ quan mà việc đông máu phụ thuộc nhiều vào con đường đông máu ngoại sinh như não, ruột, tử cung, nhau thai, tim, phổi [67],[98]. Thiếu hụt kết hợp yếu tố VIII và yếu tố VII bẩm sinh là một bệnh cực kì hiếm gặp. Trên y văn mới chỉ có một vài ca bệnh được mô tả. Có giả thuyết cho rằng do tổn thương yếu tố hoạt hóa yếu tố VII và VIII, có trường hợp được giải thích do kết hợp ngẫu nhiên 2 gen tổn thương khác nhau [99],[100],[101],[102]. Trong nghiên cứu

của chúng tôi, xuất phát từ một bệnh nhân hemophilia A có PT kéo dài (thành viên III:25 của gia đình số 44) chúng tôi phát hiện bệnh nhân có thêm yếu tố VII giảm. Kiểm tra các thành viên khác trong gia đình phát hiện anh trai của bệnh nhân là III:24 không bị hemophilia nhưng cũng có yếu tố VII giảm. Phân tích cho thấy đây là sự kết hợp ngẫu nhiên giữa gen sản xuất yếu tố VIII bị tổn thương và gen sản xuất yếu tố VII bị tổn thương và là trường hợp bệnh nhân đầu tiên bị hemophilia A kết hợp với thiếu yếu tố VII bẩm sinh được phát hiện tại Việt Nam. Bệnh nhân thiếu yếu tố VII của chúng tôi rất may mắn ở mức độ nhẹ (28%) vì vậy chưa phát hiện chảy máu bất thường trên lâm sàng. Bệnh nhân hemophilia A kết hợp thiếu hụt yếu tố VII biểu hiện lâm sàng chủ yếu là chảy máu khớp, cơ và chảy máu chân răng. Ngoài việc điều trị như bệnh nhân hemophilia đơn thuần người bệnh cần được tư vấn và quản lý chặt chẽ, đặc biệt về cơ chế di truyền và cần được cân nhắc bổ sung thêm yếu tố VII trong trường hợp chảy máu nặng hoặc khi cần phẫu thuật [101].

Trường hợp bệnh nhân hemophilia B mới thuộc gia đình số 77 sẽ phân tích ở phần người mang gen.

4.3.1.4. Về mức độ bệnh

Bảng 3.25 cho thấy trung bình mỗi gia đình phát hiện được 1,5 bệnh nhân mới, dao động từ 0 - 14 người trong đó ở những gia đình bệnh nhân mức độ nhẹ và trung bình phát hiện được nhiều bệnh nhân mới hơn so với gia đình bệnh nhân mức độ nặng, lí do bởi nhiều bệnh nhân trong gia đình mức độ nặng đã chết do không được chẩn đoán và điều trị kịp thời. Tuy nhiên, bệnh nhân mới được chẩn đoán thuộc mức độ nặng lại chiếm tỉ lệ cao nhất là 51,0% do số bệnh nhân gốc thuộc mức độ nặng chiếm tỉ lệ cao (76%). So với bệnh nhân mức độ nặng đang được quản lý tại trung tâm [76] thì tỉ lệ bệnh nhân mức độ nặng của chúng tôi là tương đương, tuy nhiên, tỉ lệ bệnh nhân mới mức độ nhẹ cao hơn.

4.3.1.5. Biểu hiện chảy máu và biến chứng do chảy máu ở các bệnh nhân mới được chẩn đoán

Hầu hết các bệnh nhân mới đều có biểu hiện chảy máu lâu cầm trong đó có 4 vị trí được ghi nhận hay chảy máu nhất là chảy máu khớp, chảy máu cơ, xuất huyết dưới da và chảy máu răng miệng (đặc biệt sau nhổ răng) với tỉ lệ lần lượt là 70%; 69,3%; 57,3% và 55,3%. Chảy máu kéo dài sau mổ, chảy máu mũi, chảy máu vết cắt chiếm tỉ lệ thấp hơn, lần lượt là 11,3%; 8% và 7,3%. Chỉ có hai bệnh nhân chiếm tỉ lệ 1,4% chưa phát hiện được biểu hiện chảy máu lâu cầm đều thuộc mức độ nhẹ. Do biểu hiện chảy máu ở bệnh nhân mức độ nhẹ kín đáo, thường xuất hiện sau chấn thương, phẫu thuật, hai bệnh nhân này chưa phải trải qua chấn thương, va chạm và phẫu thuật do đó triệu chứng chảy máu còn chưa bộc lộ.

Bảng 4.7. Biểu hiện chảy máu ở bệnh nhân hemophilia trong một số nghiên cứu

Vị trí chảy máu	Vũ Thị Minh Châu, 2001 (%) [96]	Nguyễn Anh Trí, 2005 (%) [75]	Chúng tôi, (%)
Chảy máu khớp	93,8	68,2	70
Chảy máu cơ	48,1	11,1	69,3
Chảy máu mũi	2,5	0,7	8
Chảy máu răng miệng	11,1	8,2	55,3
Xuất huyết tiêu hóa	7,4	2,2	5,3
Đái máu	14,8	2,8	2,7
Tụ máu dưới da	22,2	0	57,3
Chảy máu sau mổ	8,6	1,2	11,3
Xuất huyết não		0	2
Vị trí khác		5,6	7,3

Chảy máu khớp và chảy máu cơ là những vị trí chảy máu hay gặp nhất, giống như trong nghiên cứu của các tác giả Vũ Thị Minh Châu [96] và

Nguyễn Anh Trí [75]. Marilyn Manco – Jhonson năm 2016 khi nghiên cứu trên 3727 bệnh nhân hemophilia tại Mỹ cũng nhận thấy có 77% bệnh nhân có tiền sử chảy máu khớp, tương đương với nghiên cứu của chúng tôi [103].

Tỉ lệ xuất huyết dưới da và chảy máu răng miệng được ghi nhận khá cao, ở 57,3% và 55,3% các trường hợp, khác với tỉ lệ chảy máu trong nghiên cứu của tác giả Vũ Thị Minh Châu năm 2001 [96] và Nguyễn Anh Trí năm 2005 [75] trên các bệnh nhân tại bệnh viện. Sở dĩ có sự khác nhau này là do khác nhau về cách ghi nhận dấu hiệu chảy máu. Đối với các bệnh nhân tại bệnh viện thì các biểu hiện chảy máu là lí do để bệnh nhân đi khám và điều trị; còn trong nghiên cứu của chúng tôi thì là các vị trí mà bệnh nhân đã từng bị chảy máu (triệu chứng chảy máu được đánh giá qua nhận định của bệnh nhân và người nhà). Đối với bệnh nhi hemophilia mức độ nặng, triệu chứng chảy máu bất thường được phát hiện sớm nhất thường là các đám xuất huyết dưới da xuất hiện khi trẻ bắt đầu biết bò và tập đi. Còn chảy máu răng miệng, đặc biệt là chảy máu kéo dài sau nhổ răng là triệu chứng rất hay gặp ở tất cả các bệnh nhân.

Chảy máu não và xuất huyết tiêu hóa trong nghiên cứu của chúng tôi chiếm tỉ lệ thấp, có thể do đây là những vị trí chảy máu nguy hiểm, người bệnh thường khó qua khỏi nếu bị chảy máu ở những vị trí này khi không được điều trị.

Có 17 bệnh nhân chiếm 11,3% bị chảy máu kéo dài sau mổ, đa số trong đó thuộc mức độ nhẹ. Tỉ lệ này cao hơn so với nghiên cứu của các tác giả khác [75],[96]. Điều này chứng tỏ việc khai thác tiền sử chảy máu cũng như các xét nghiệm đông cầm máu tiền phẫu tại các bệnh viện vẫn chưa được thực hiện và coi trọng đúng mức.

Teo cơ, cứng khớp, hạn chế vận động cơ khớp là hậu quả của việc chảy máu lặp lại trong cơ, khớp mà không được điều trị đầy đủ. Đây là một trong những biến chứng hay gặp nhất của bệnh hemophilia và là nguyên nhân chính

làm cho bệnh nhân trở thành người tàn tật. Do được chẩn đoán muộn nên có tới 25% bệnh nhân mới được chẩn đoán bị cứng khớp và 21% bệnh nhân bị teo cơ. Hậu quả của biến dạng khớp và teo cơ là làm cho bệnh nhân không thể vận động được bình thường. Các biến chứng này gặp ở các bệnh nhân mức độ nặng. Tuy nhiên, so với tỉ lệ biến chứng cơ khớp của các bệnh nhân đang điều trị tại bệnh viện thì tỉ lệ này thấp hơn: 60,5% theo tác giả Vũ Thị Minh Châu 2001 [96], 58,97% theo tác giả Trần Thị Phương Túy 2009 [104] và 61-71% theo nghiên cứu của Soon Ki Kim 2016 (Hàn Quốc) [105], lí do bởi tỉ lệ bệnh nhân mức độ nặng của chúng tôi thấp hơn so với tỉ lệ bệnh nhân mức độ nặng trong các nghiên cứu khác.

Trong số bệnh nhân mới có 1 người thuộc mức độ nhẹ bị di chứng xuất huyết não gây liệt vận động. Nếu bệnh nhân được chẩn đoán sớm hơn có lẽ đã không bị di chứng đáng tiếc như vậy.

4.3.1.6. Đặc điểm xét nghiệm của bệnh nhân mới

APTT được cho là một xét nghiệm nhạy trong phát hiện các bất thường liên quan đến con đường đông máu nội sinh, hơn hẳn thời gian máu đông và thời gian Howell và đã được khuyến cáo sử dụng sàng lọc cho bệnh nhân hemophilia tại Việt Nam từ những năm 1990 của thế kỉ trước [106]. Chỉ số rAPTT của các bệnh nhân mới được chẩn đoán là $3,4 \pm 1,5$, dao động từ 1,12 - > 5 trong đó tất cả các bệnh nhân hemophilia đều có APTT kéo dài. Chỉ có duy nhất bệnh nhân thiếu yếu tố VII có APTT bình thường.

- Kháng đông nội sinh là xét nghiệm để xác định định tính có kháng đông lưu hành đường nội sinh. Trong nghiên cứu này kháng đông nội sinh được tiến hành cho các bệnh nhân có APTT kéo dài nhằm mục đích xác định nguyên nhân APTT kéo dài do thiếu hụt yếu tố đông máu hay do kháng đông. Tất cả các bệnh nhân mới của chúng tôi đều có kháng đông nội sinh âm tính, điều này là hợp lí vì đa số chưa được nhận chế phẩm máu bao giờ.

- Chúng tôi không gặp trường hợp nào có số lượng tiểu cầu giảm, fibrinogen giảm hoặc kéo dài TT. So với kết quả sàng lọc các chỉ số này của tác giả Trần Thị Vân Hà trên 204 bệnh nhân hemophilia A và B điều trị tại viện Huyết học – Truyền máu TW [107] (bảng 4.8) chúng tôi thấy có khác biệt là: bệnh nhân điều trị tại viện đa số có tiểu cầu bình thường, 3,45% có tiểu cầu giảm liên quan đến việc chảy máu số lượng lớn và bệnh lý viêm gan do truyền máu nhiều lần. Bệnh nhân của chúng tôi được chẩn đoán chủ động, không bị chảy máu ồ ạt và cũng ít nhận chế phẩm máu vì vậy không có bệnh nhân nào bị giảm tiểu cầu.

Bảng 4.8. Kết quả xét nghiệm đông máu ở các bệnh nhân hemophilia trong một số nghiên cứu

		SL TC ($\times 10^9/l$)	PT (%)	rAPTT	rTT	Fibrinogen (g/l)	VIII (%)
Chúng tôi (n = 147)	X \pm SD	285,5 \pm 88,2	104,3 \pm 19,6	3,4 \pm 1,5	1,0 \pm 0,1	3,4 \pm 0,9	6,3 \pm 17,1 /trung vị 0,9
	Min-max	150 – 571	52-191	1,1 -> 5	0,9 -1,3	2,2 - 6,3	0,1 - 176
Trần Thị Vân Hà [107] (n = 204)	X \pm SD	320,81 \pm 107,7	88,26 \pm 20,51			4,97 \pm 1,62	
	Min-max	50 - 887	31 -140	> 1.25	0,8 – 1,25	21 – 10,2	

- Do yếu tố VIII và yếu tố IX tham gia con đường đông máu nội sinh vì vậy ở bệnh nhân hemophilia, trong số các xét nghiệm sàng lọc đông máu gồm PT, APTT, TT, fibrinogen, số lượng tiểu cầu thông thường chỉ có APTT kéo dài, còn các chỉ số khác trong giới hạn bình thường. Đánh giá các xét nghiệm PT chúng tôi nhận thấy hầu hết các trường hợp có chỉ số PT trong giới hạn bình thường, tuy nhiên có một trường hợp III:25 thuộc phả hệ số 44 (sơ đồ

3.3) vừa có APTT kéo dài (rAPTT 2,6) vừa có PT giảm 52%, người bệnh này còn có một anh trai III:24 không có biểu hiện chảy máu, APTT bình thường nhưng cũng có PT giảm 54% trong khi 4 thành viên khác có biểu hiện chảy máu trong gia đình lại chỉ có APTT kéo dài đơn thuần. Làm thêm xét nghiệm chúng tôi phát hiện hai anh em đều có yếu tố VII giảm nhẹ 28%, người em và 4 thành viên kia đều có thêm yếu tố VIII giảm. Đây là trường hợp hemophilia A kết hợp thiếu hụt yếu tố VII bẩm sinh, là kết quả của sự ***kết hợp giữa một người mẹ vừa mang gen hemophilia A, vừa dị hợp tử gen yếu tố VII với một người bố dị hợp tử gen yếu tố VII*** như đã phân tích ở trên (mục 4.3.1.3).

- Về nồng độ yếu tố VIII, IX: Định lượng yếu tố VIII/IX < 40% là tiêu chuẩn vàng để chẩn đoán hemophilia. Biểu đồ 3.10, 3.11 và 3.12 cho thấy nồng độ VIII của các bệnh nhân hemophilia mới được chẩn đoán tập trung nhiều trong khoảng dưới 10%. Nhìn chung, nồng độ yếu tố VIII càng giảm thì bệnh nhân càng dễ bị chảy máu [8],[67],[108]. So sánh nồng độ yếu tố VIII giữa các thành viên bị bệnh trong gia đình với nhau chúng tôi nhận thấy nồng độ yếu tố VIII giữa các thành viên bị bệnh trong một gia đình là tương đương, tuy nhiên có xu hướng tăng hơn ở người cao tuổi trong các gia đình bệnh nhân mức độ trung bình và nhẹ, đồng thời, mức độ chảy máu và độ thường xuyên của chảy máu giữa họ cũng không hoàn toàn giống nhau. Năm 2007, Trần Thị Phương Túy khi nghiên cứu trên 67 thành viên thuộc 12 dòng họ bệnh nhân hemophilia tại bệnh viện Đa khoa trung ương Huế cũng cho kết quả tương tự như nghiên cứu của chúng tôi [83]. Điều này được lí giải bởi nồng độ yếu tố VIII/IX ngoài việc sản xuất do gen quy định thì còn bị ảnh hưởng bởi một số yếu tố khác như tuổi tác, hoạt động thể lực, nhóm máu, stress... Trên cùng một bệnh nhân, nếu thường xuyên tập luyện thể lực sẽ làm giảm tần suất cũng như độ nặng của chảy máu [8],[109]. Bên cạnh đó biểu hiện chảy máu trên lâm sàng còn phụ thuộc vào một số tổn thương đi kèm

khác: Ví dụ một bệnh nhân mức độ nặng có thể ít có biểu hiện chảy máu nếu có kết hợp thêm tổn thương yếu tố V Leiden hoặc một bệnh nhân mức độ trung bình lại rất hay bị chảy máu... [110].

4.3.2. Đặc điểm của người mang gen bệnh

4.3.2.1. Về tuổi

Theo hướng dẫn của Liên đoàn Hemophilia Thế giới, thời điểm lí tưởng nhất để chẩn đoán tình trạng mang gen cho những người phụ nữ liên quan đến hemophilia là thời điểm trước khi có kinh lần đầu hoặc nếu không thì cũng nên tiến hành trước khi có thai để có đủ thời gian làm xét nghiệm cũng như lên kế hoạch cho việc chẩn đoán trước sinh hoặc chẩn đoán trước cấy phôi nếu cần [30]. Paroskie năm 2012 cũng đã gợi ý thời điểm chẩn đoán tình trạng mang gen hemophilia nên xung quanh 14 tuổi [111]. Mặc dù vậy, thời điểm được chẩn đoán này cũng tùy thuộc vào nhiều yếu tố như: nhận thức của bệnh nhân và gia đình, điều kiện, trang thiết bị của cơ sở điều trị, các yếu tố văn hóa, tín ngưỡng... Tuổi trung bình của những người phụ nữ được xác định mang gen và có khả năng mang gen trong nghiên cứu của chúng tôi lần lượt là 38,9 tuổi và 24 tuổi, đều thuộc lứa tuổi sinh đẻ. Các thành viên trong độ tuổi này thường quan tâm đến vấn đề mang gen hơn so với những thành viên trong độ tuổi khác. So với khuyến cáo của Liên đoàn Hemophilia Thế giới thì thời điểm được chẩn đoán của những người mang gen trong nghiên cứu của chúng tôi là tương đối muộn nhưng tương đương so với nghiên cứu của Paroskie (35 ± 11 tuổi) [111], Olsson (27,2 tuổi) [112].

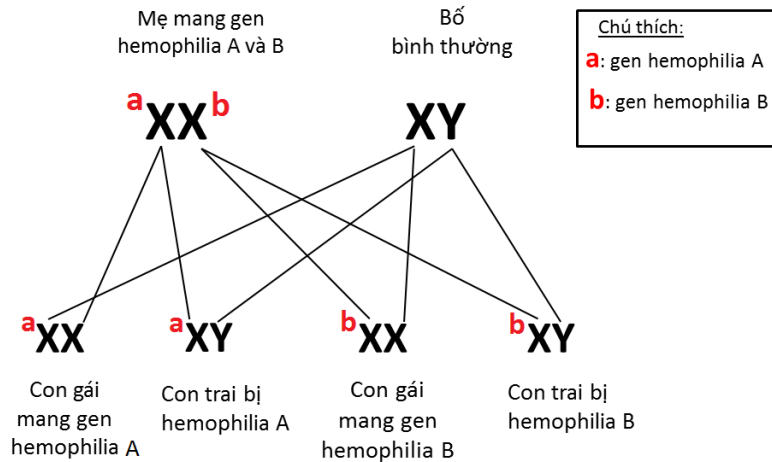
4.3.2.2. Về thể bệnh

Mặc dù các bệnh nhân gốc đều là hemophilia A, tuy nhiên chúng tôi đã phát hiện một phụ nữ vừa mang gen hemophilia A, vừa mang gen hemophilia B. Đây là con của một người bố bị hemophilia A mức độ nặng và mẹ mang

gen hemophilia B và là trường hợp mang gen dị hợp tử kép cả hemophilia A và hemophilia B đầu tiên được mô tả tại Việt Nam. Gia đình này có một con trai và một người anh trai của mẹ bị hemophilia B mức độ trung bình (bảng 3.28, sơ đồ 3.10 và 3.11). Năm 2001 Shetty và cộng sự cũng đã mô tả 1 trường hợp thiếu kết hợp yếu tố VIII và IX do tổ hợp của 2 gen bất thường trong 1 gia đình có bố bị hemophilia A mức độ nhẹ và mẹ là người mang gen hemophilia B. Hai con trai của họ bị hemophilia B và con gái vừa mang gen hemophilia A vừa mang gen hemophilia B [113]. Do hemophilia A và hemophilia B là các bệnh hiếm gặp vì vậy xác suất gặp nhau ngẫu nhiên trong cộng đồng giữa người có bệnh hemophilia A và người mang gen hemophilia B là rất thấp, trên thế giới cho đến nay mới chỉ có 3 trường hợp được mô tả [113]. Tuy nhiên trong trường hợp này, hai vợ chồng gặp nhau trong hoàn cảnh đặc biệt: người vợ đi chăm anh trai bị bệnh tại bệnh viện đã gặp và phát sinh tình cảm với người chồng cũng đang điều trị tại viện. Tính từ khi quen biết đến trước khi sinh con trai thứ hai bị bệnh, cả hai vợ chồng đều không biết người vợ có khả năng mang gen vì vậy không được tư vấn di truyền kịp thời. Điều này cho thấy hiểu biết của người bệnh và gia đình người bệnh hemophilia về cơ chế di truyền còn hạn chế, đồng thời công tác tư vấn của cán bộ y tế chưa đầy đủ và kịp thời.

Người phụ nữ mang gen hemophilia A kết hợp mang gen hemophilia B nếu kết hôn với một người chồng bình thường thì xác suất cho mỗi lần sinh con là 25% con gái mang gen hemophilia A, 25% con gái mang gen hemophilia B, 25% con trai bị hemophilia A, 25% con trai bị hemophilia B (sơ đồ 4.1) vì vậy việc tư vấn di truyền và tư vấn tâm lý cho người phụ nữ này là hết sức quan trọng, cần được chuẩn bị và tiến hành chu đáo nhằm giúp cho cô ấy có được quyết định hợp lý nhất cho tương lai. Bên cạnh đó, người phụ nữ này còn có nồng độ yếu tố VIII và yếu tố IX thấp, có nguy cơ cao bị chảy máu vì vậy cần được theo dõi, quản lý và điều trị kịp thời tránh các biến chứng

do chảy máu gây ra.



Sơ đồ 4.1. Xác suất cho mỗi lần sinh con của cặp vợ chồng có vợ là người mang gen hemophilia A kết hợp hemophilia B và chồng bình thường

4.3.2.3. Về đặc điểm xuất huyết

Trước đây người ta cho rằng người mang gen hemophilia thường không bị chảy máu bất thường. Tuy nhiên từ năm 1952 Merskey C và Macfarlane RG đã ghi nhận tỉ lệ chảy máu kéo dài sau nhổ răng ở người phụ nữ mang gen hemophilia lên tới 47% [114]. Ngày nay việc người phụ nữ mang gen hemophilia bị chảy máu bất thường không còn là điều tranh cãi, ngay cả khi nồng độ yếu tố VIII của họ bình thường ($> 40\%$) và Liên đoàn Hemophilia Thế giới ghi nhận rằng có đến 20 - 50% phụ nữ mang gen có biểu hiện chảy máu bất thường [32], [115]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, trong số 329 người mang gen có 235 người trả lời bộ câu hỏi sàng lọc trong đó có 80 người chiếm tỉ lệ 34% có chảy máu bất thường với biểu hiện đa dạng. Các vị trí chảy máu hay gặp nhất là xuất huyết dưới da, rong kinh, chảy máu sau đẻ và chảy máu răng miệng với tỉ lệ lần lượt là 62,5%; 47,5%; 40% và 25%. Kết quả này cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của các tác giả khác như Paroskie 2014 [115], Eveline P. Mauser-Bunschoten 2008 [32] và Miesbach 2011 [116] (bảng 4.9).

Bảng 4.9. Vị trí chảy máu của người mang gen trong một số nghiên cứu

Tác giả Vị trí (tỉ lệ %)	Iris Plug [114] (n= 74)	Miesbach [116] (n = 46)	Eveline P. Mauser- Bunschoten [32]	Paroskie [115] (n = 32)	Chúng tôi (n = 235)
Xuất huyết dưới da	19	67	37	59	62,5
Rong kinh		50	31	94	47,5
Chảy máu sau đẻ		43	22	66	40
Chảy máu răng miệng	60	77	0	22	25
Chảy máu khớp	8			16	7,5
Chảy máu cơ		67			8,8
Xuất huyết tiêu hóa					2,5
Đái máu					2,5
Chảy máu mũi	43		8	38	2,5
Chảy máu sau mổ		61	30	41	2,5

Rong kinh và chảy máu sau đẻ là những hình thức chảy máu chỉ có ở phụ nữ trong đó rong kinh không chỉ ảnh hưởng đến sức khỏe thể chất của người bệnh mà còn gây bất tiện trong sinh hoạt, ảnh hưởng đến chất lượng sống của người bệnh. Bên cạnh đó rong kinh cũng là triệu chứng khá hay gặp ở người bình thường [117] vì vậy rất dễ bị bỏ qua. Chảy máu sau đẻ là một trong những chảy máu nguy hiểm, có thể ảnh hưởng đến tính mạng. Các nghiên cứu trên và nghiên cứu của chúng tôi đều cho thấy tỉ lệ rong kinh và chảy máu sau đẻ ở người mang gen hemophilia A là rất cao vì vậy rất cần được quản lí, điều trị kịp thời với sự phối hợp các chuyên ngành Huyết học và Sản khoa [118], [119],[120].

Khác với bệnh nhân hemophilia có biểu hiện chảy máu chủ yếu ở khớp và cơ, người mang gen hemophilia A trong nghiên cứu của chúng tôi ít bị chảy máu khớp, cơ hơn, với tỉ lệ lần lượt là 7,5% và 8,8%. Tỉ lệ chảy máu khớp tương đương với kết quả của Iris và cộng sự [114] nhưng thấp hơn so với của Paroskie [115]. Tỉ lệ chảy máu cơ của chúng tôi thấp hơn nhiều so với

của Miesbach [116]. Điều này có thể lí giải do đặc điểm khác nhau về thể lực, mức độ vận động và thói quen sinh hoạt của những người mang gen trong các nghiên cứu. Khi bị chảy máu cơ, khớp tái phát nhiều lần sẽ gây hậu quả bệnh khớp mạn tính, teo cơ, cứng khớp làm ảnh hưởng đến tầm vận động. Một nghiên cứu trên 148 người phụ nữ có yếu tố VIII/IX giảm và 303 người phụ nữ bình thường đã cho thấy tầm vận động khớp của những người có nồng độ yếu tố VIII/IX giảm thấp hơn so với người bình thường và nguyên nhân được cho là do chảy máu trong cơ, khớp [121]. Tác giả L. Gilbert năm 2014 trong nghiên cứu của mình cũng cho kết quả tương tự [122].

Theo Eveline (Hà Lan) [32], Paroskie (Mỹ)[115], Iris Plug (Hà Lan) [114] thì chảy máu mũi là vị trí khá hay gặp, tuy nhiên trong nghiên cứu của chúng tôi chỉ ghi nhận ở 2 trường hợp, chiếm tỉ lệ 2,5%. Điều này có thể do các nghiên cứu trên tiến hành ở vùng khí hậu khô nên tỉ lệ bị chảy máu mũi gặp cao hơn so với nghiên cứu của chúng tôi tiến hành ở vùng có khí hậu nhiệt đới.

Trong nghiên cứu này có 2 trường hợp chiếm tỉ lệ 2,5% có chảy máu sau mổ trong đó có 1 bệnh nhân bị chảy máu sau mổ cắt polyp trực tràng phải điều trị bằng bổ sung yếu tố đông máu mới cầm được chảy máu. Tỉ lệ chảy máu sau mổ của chúng tôi thấp hơn so với các nghiên cứu khác [32],[115],[116]. Paroskie năm 2015 ghi nhận có < 10% phụ nữ mang gen hemophilia phải điều trị bằng yếu tố cô đặc để cầm chảy máu [117]. Becki Berkowitz năm 2015 cho thấy có 20 - 25% người phụ nữ trong một gia đình hemophilia A phải bổ sung yếu tố VIII trong quá trình đẻ và phẫu thuật [123].

Như vậy người mang gen hemophilia ngoài việc có thể truyền gen bệnh

cho thể hệ sau còn phải đối mặt với nguy cơ chảy máu bất thường. Điều này cho thấy bên cạnh việc tư vấn di truyền, người mang gen cần được chẩn đoán, quản lý và tư vấn về tình trạng bất thường chảy máu để có thể kịp thời điều trị, tránh những biến chứng đáng tiếc do chảy máu gây nên.

4.3.2.4. Về đặc điểm xét nghiệm

a. APTT và kháng đông nội sinh

APTT là một xét nghiệm được sử dụng rộng rãi hiện nay trên thế giới cũng như ở Việt Nam trong phát hiện bất thường đường đông máu nội sinh bởi độ nhạy và độ đặc hiệu cao của xét nghiệm này. APTT thường kéo dài (chỉ số rAPTT tăng) do thiếu hụt một hoặc nhiều yếu tố đông máu VIII, IX, XI, XII hoặc có mặt chất ức chế đường đông máu nội sinh [72],[124].

Hầu hết bệnh nhân hemophilia có kết quả APTT kéo dài bởi giảm nồng độ yếu tố VIII/IX. Đối với những người mang gen, có khoảng 20 – 50% trong số họ có nồng độ yếu tố VIII/IX giảm và đây là nguyên nhân chính gây nên kéo dài APTT.

Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.29 cho thấy có đến 40 người mang gen chiếm tỉ lệ 26,7% có APTT kéo dài trong đó đa số là kéo dài ở mức độ nhẹ ($1,25 < rAPTT < 1,5$). Kết quả kháng đông nội sinh âm tính đã loại trừ sự có mặt của chất ức chế đông máu đường nội sinh.

Như vậy, nếu như bệnh nhân hemophilia có tỷ lệ APTT kéo dài rất cao (> 95%) và thường APTT rất dài hoặc dài vừa, chỉ có một tỷ lệ thấp APTT kéo dài nhẹ, thì ngược lại chỉ khoảng 26,7% những người mang gen có APTT kéo dài và hầu hết kéo dài mức độ nhẹ.

Kết quả APTT có lẽ phản ánh đúng mức độ giảm yếu tố VIII ở người mang gen thường nhẹ hơn cũng như tỷ lệ có giảm yếu tố VIII ở những người

mang gen cũng thấp hơn nhiều so với bệnh nhân hemophilia.

b. Nồng độ yếu tố VIII

Nồng độ yếu tố VIII đóng vai trò quan trọng trong con đường đông máu nội sinh của quá trình đông máu. Sự thiếu hụt yếu tố VIII làm giảm khả năng sinh thromboplastin nội sinh, dẫn đến lượng thrombin không đủ để chuyển fibrinogen thành lưới fibrin đầy đủ cho hình thành cục đông bền vững và là nguyên nhân gây giảm đông, chảy máu ở những bệnh nhân này.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nồng độ yếu tố VIII ở người mang gen hemophilia A là $52,6 \pm 20,4$, ở giới hạn thấp của bình thường, dao động từ 10 – 131%. So với nồng độ yếu tố VIII ở người bình thường thì thấp hơn (bảng 3.19). Nghiên cứu của nhiều tác giả trong nước và trên thế giới đều cho kết quả tương tự (bảng 4.10).

Bảng 4.10. Nồng độ yếu tố VIII của người mang gen trong một số nghiên cứu

Tác giả	Người mang gen	Phụ nữ bình thường	p
Graham JB [38]	$55,0 \pm 27,0$ n = 336	$106,0 \pm 42,0$ n = 137	< 0,01
Iris Plug [114]	60 (5 – 219)	102 (45 – 328) n = 143	< 0,01
Paroskie [117]	$82,5 (37 – 195)$ n = 34	134 (68 – 242)	< 0,01
Ay C [90]	74 (51 – 103) n = 42	142 (109 – 169) n = 42	< 0,01
Chúng tôi	$52,6 \pm 20,4$ (10 – 131) n = 157	$81,4 \pm 27,9$ (42 – 191) n = 70	< 0,05

Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy có sự khác nhau khá lớn về nồng độ yếu tố VIII ở nhóm người mang gen bệnh hemophilia: một số người giảm, một số người gần bình thường và một số người bình thường. Tác giả JB Graham (năm 1976) đã mô tả trường hợp một gia đình có 3 chị em gái ruột là

con của một bệnh nhân hemophilia A mức độ trung bình lại thể hiện ở 3 kiểu hình khác nhau: Một người không có biểu hiện chảy máu bất thường, nồng độ yếu tố VIII bình thường; một người không có biểu hiện chảy máu bất thường, yếu tố VIII thấp; một người có biểu hiện chảy máu bất thường và có nồng độ yếu tố VIII thấp [125]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, gia đình số 50 có 3 chị em gái ruột là con của một bệnh nhân hemophilia A mức độ nhẹ cũng thể hiện 3 kiểu hình khác nhau: một người có biểu hiện chảy máu bất thường tương đối nặng (rong kinh, chảy máu sau đẻ đến mức phải truyền máu, xuất huyết dưới da), nồng độ yếu tố VIII rất thấp 10%; một người có biểu hiện chảy máu nhẹ hơn như chảy máu răng miệng, xuất huyết dưới da, nồng độ yếu tố VIII bình thường (59%); 1 người không có biểu hiện chảy máu bất thường có nồng độ yếu tố VIII thấp (38%). Theo JB. Graham thì nguyên nhân chính gây nên tình trạng này là do hiện tượng bất hoạt nhiễm sắc thể X xảy ra trong giai đoạn bào thai [125]. Mặc dù quá trình bất hoạt nhiễm sắc thể X là ngẫu nhiên, tuy nhiên người ta cũng đã ghi nhận một số cơ chế di truyền gây bất hoạt ưu thế. Do đó, một cá thể nữ mang gen di truyền lặn cũng có thể biểu hiện bệnh nếu như nhiễm sắc thể bị bất hoạt ưu thế là nhiễm sắc thể bình thường [22],[33],[126]. Ngoài ra, một vài yếu tố khác ngoài các yếu tố gen và môi trường, bên cạnh đột biến gen yếu tố VIII đã được cho là có ảnh hưởng đến nồng độ yếu tố VIII như các đột biến và đa hình tại gen yếu tố von Willebrand và các gen khác ảnh hưởng đến sự biểu hiện và độ ổn định của yếu tố VIII [90],[127]. Như vậy, nồng độ yếu tố VIII của một người mang gen không có giá trị tiên đoán nồng độ yếu tố VIII của thành viên khác trong gia đình. Những người mang gen có nồng độ yếu tố VIII thấp không có nguy cơ có con bị hemophilia cao hơn so với người mang gen có nồng độ yếu tố cao [33].

Bảng 3.32 và 3.33 cho thấy không có sự khác nhau về yếu tố VIII giữa

những người mang gen mức độ nặng nhẹ khác nhau cũng như giữa người mang gen mức độ nặng có đảo đoạn intron 22 và không có đảo đoạn intron 22. Kết quả này tương đương với kết quả của tác giả Iris Plug [114] và Miesbach [116] nhưng khác biệt so với E. Funding và cộng sự [128]. Theo E. Funding, mặc dù nồng độ yếu tố VIII ở người mang gen là khác nhau, tuy nhiên người mang gen hemophilia A mức độ nặng có nồng độ yếu tố VIII thấp hơn người mang gen hemophilia mức độ trung bình và mức độ nhẹ [128].

c. Mối liên quan giữa tình trạng xuất huyết và xét nghiệm đông máu

APTT là xét nghiệm có độ nhạy và độ đặc hiệu cao trong phát hiện bất thường đường đông máu nội sinh, nhất là trong những trường hợp thiếu hụt các yếu tố VIII, IX, XI. Thiếu hụt yếu tố VIII ở những người mang gen hemophilia A là nguyên nhân gây nên APTT kéo dài ở những người này, và vì vậy kéo dài APTT liên quan chặt chẽ với tình trạng xuất huyết trên lâm sàng.

Kết quả bảng 3.30 cho thấy những người mang gen có APTT kéo dài, nguy cơ xuất huyết cao gấp 2,5 lần so với những người có kết quả xét nghiệm APTT bình thường.

Mức độ xuất huyết ở bệnh nhân hemophiliavà người mang gen bệnh hemophilia A phụ thuộc vào nồng độ yếu tố VIII [110],[129].

- Nồng độ yếu tố VIII < 1%, gây nên tình trạng xuất huyết ở mức độ nặng và thường tự phát, liên quan đến chấn thương hoặc không.

- Nồng độ yếu tố VIII từ 1 – 5 %, tình trạng xuất huyết ở mức trung bình và hay gặp chủ yếu sau chấn thương nhẹ.

- Nồng độ yếu tố VIII từ 5 – 40 %, không có xuất huyết thường xuyên, được xếp vào mức độ nhẹ. Chỉ gặp xuất huyết hay chảy máu sau chấn thương nặng, sau phẫu thuật.

Kết quả trình bày ở bảng 3.34 cho thấy trong 3 mức độ yếu tố VIII < 40%, 40 – 60% và > 60% thì người mang gen có nồng độ yếu tố VIII càng thấp có tỉ lệ và nguy cơ xuất huyết càng cao. Kết quả này cũng tương đồng với nghiên cứu của nhiều tác giả khác trên thế giới như Iris Plug [114], Paroskie [43]... Chính vì vậy Liên đoàn Hemophilia Thế giới đã ra khuyến cáo cần tư vấn sức khỏe, điều trị và quản lí cho những người mang gen có nồng độ yếu tố VIII/IX thấp hơn 40% như đối với bệnh nhân hemophilia [8]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, có 40 người (26,7%) có nồng độ yếu tố VIII < 40%, những người này được coi là bệnh nhân hemophilia mức độ nhẹ. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Iris Plug (62/225 người tương đương 27,6%)[114] nhưng cao hơn của Paroskie (1/34 người tương đương 2,9%) [43]. Bảng 3.34 cho thấy nguy cơ xuất huyết ở người có nồng độ yếu tố VIII < 40% cao hơn gấp 10,3 lần những người có nồng độ yếu tố VIII \geq 40 và gấp 5,1 lần người có nồng độ yếu tố VIII từ 40 – 60%. Đặc biệt người mang gen có nồng độ yếu tố VIII từ 40 – 60% là nồng độ trong giới hạn thấp của bình thường nhưng vẫn có nguy cơ xuất huyết cao hơn gấp 8,7 lần so với người có nồng độ VIII > 60%. Nhiều tác giả đã chỉ ra rằng người mang gen hemophilia có nguy cơ chảy máu cao ngay cả khi có nồng độ yếu tố VIII bình thường. Nguy cơ này không chỉ phụ thuộc vào nồng độ yếu tố đông máu của người mang gen mà còn phụ thuộc vào loại hình chảy máu, vào việc họ có phải trải qua can thiệp ngoại khoa hay không cũng như vào mức độ bệnh và tình trạng chảy máu, loại tổn thương di truyền của bệnh nhân hemophilia trong gia đình người phụ nữ đó [114],[116],[130].

Rong kinh và chảy máu sau đẻ là những hình thức chảy máu chỉ gặp ở phụ nữ. Chúng không những có thể ảnh hưởng đến tính mạng mà còn ảnh hưởng nhiều đến sinh hoạt hàng ngày của bệnh nhân. Ở người mang gen là

bệnh nhân (có nồng độ yếu tố VIII < 40%) nguy cơ rong kinh và chảy máu sau đẻ cao hơn những người mang gen thông thường (có nồng độ VIII \geq 40%) lần lượt là 3,5 lần và 4,2 lần.

Như vậy người mang gen hemophilia ngoài việc có thể truyền gen bệnh cho thế hệ sau còn có nguy cơ cao bị chảy máu. Chính vì vậy tất cả những người mang gen và có khả năng mang gen hemophilia đều cần được kiểm tra yếu tố đông máu để biết được nguy cơ và có kế hoạch dự phòng, bổ sung yếu tố đông máu nếu cần thiết, đặc biệt là thời điểm trước khi tiến hành thủ thuật, trong quá trình mang thai hoặc khi có triệu chứng chảy máu, đồng thời cần phối hợp chuyên khoa, đặc biệt chuyên khoa Sản trong chẩn đoán, quản lý và điều trị người mang gen [8],[131],[132].

KẾT LUẬN

Qua phân tích phả hệ của 100 bệnh nhân hemophilia A được chẩn đoán và điều trị tại Viện Huyết học – Truyền máu TW, bao gồm 869 người nam và 533 người nữ chúng tôi xin đưa ra một số kết luận sau:

1. Phát hiện bệnh nhân và người mang gen hemophilia

Phân tích phả hệ là phương pháp hiệu quả trong phát hiện bệnh nhân mới và người mang gen trong gia đình bệnh nhân hemophilia.

1.2. Phát hiện bệnh nhân mới

Phân tích phả hệ giúp phát hiện được 147 bệnh nhân hemophilia là nam giới, chiếm tỉ lệ 16,9%. Kết quả hồi cứu cũng cho thấy có 76 người đã tử vong nghi ngờ bị hemophilia.

1.3. Phát hiện người mang gen

- Qua phân tích 533 người phụ nữ có liên quan đến hemophilia chúng tôi phát hiện được 367 người mang gen chiếm tỉ lệ 68,9% trong đó:

- + Phân tích phả hệ giúp phát hiện 329 người mang gen chiếm tỉ lệ 61,7%.
- + Phân tích đột biến gen *F8* phát hiện thêm 30 người mang gen chiếm tỉ lệ 5,6%.
- + Phân tích PCR-RFLP với *BclI* phát hiện thêm 8 người mang gen chiếm tỉ lệ 1,5%.

- Tỉ số FVIII/vWF:Ag < 0,71 có giá trị trong chẩn đoán tình trạng mang gen hemophilia A với độ nhạy là 90% và độ đặc hiệu là 78,3%.

- Phối hợp các phương pháp giúp nâng cao hiệu quả chẩn đoán người mang gen.

2. Đặc điểm xuất huyết và xét nghiệm đông máu của bệnh nhân và người mang gen mới được chẩn đoán

2.1. Đặc điểm của bệnh nhân mới

- Đa số (97,9%) bệnh nhân là hemophilia A; có 1 trường hợp hemophilia A kết hợp thiếu yếu tố VII bẩm sinh; 1 trường hợp thiếu yếu tố VII bẩm sinh đơn thuần và 1 trường hợp hemophilia B. Trên 50% bệnh nhân mới thuộc mức độ nặng.

- Hầu hết (98,6%) bệnh nhân có biểu hiện chảy máu lâu cầm. Các vị trí chảy máu hay gặp nhất là khớp, cơ, xuất huyết dưới da và chảy máu răng miệng với tỉ lệ lần lượt là 70%, 69,3%, 57,3% và 55,3%.

2.2. Đặc điểm của người mang gen bệnh

- Hầu hết (99,7%) là người mang gen hemophilia A, có 1 người vừa mang gen hemophilia A vừa mang gen hemophilia B.

- Tỉ lệ xuất huyết của người mang gen là 34%. Loại xuất huyết hay gặp nhất là xuất huyết dưới da, rong kinh, chảy máu sau đẻ và chảy máu răng miệng.

- Nồng độ yếu tố VIII của người mang gen thấp hơn phụ nữ bình thường với $p < 0,05$. Nồng độ yếu tố VIII càng thấp nguy cơ xuất huyết càng cao. Giữa những người mang gen hemophilia mức độ khác nhau không có sự khác nhau về nồng độ yếu tố VIII.

- Có 40 người chiếm tỉ lệ 26,7% có nồng độ yếu tố VIII $< 40\%$ được xem là bệnh nhân hemophilia A mức độ nhẹ.

KIẾN NGHỊ

1. Nên áp dụng phương pháp phát hiện bệnh nhân và người mang gen hemophilia bằng phân tích phả hệ bệnh nhân đã được chẩn đoán trên phạm vi toàn quốc bởi tính hiệu quả, khả năng áp dụng rộng rãi của phương pháp.

2. Cần đẩy mạnh công tác tuyên truyền và giáo dục bệnh nhân và người nhà về cơ chế di truyền, về vai trò của việc phát hiện sớm bệnh nhân và người mang gen để họ phối hợp với cán bộ y tế trong việc chẩn đoán, điều trị bệnh cũng như kiểm soát việc phát tán nguồn gen bệnh, góp phần cải tạo giống nòi.

3. Cần định lượng yếu tố VIII cho tất cả những người mang gen và có khả năng mang gen để chủ động phát hiện, điều trị và phòng ngừa các biến chứng do chảy máu gây nên. Đối với những người có nồng độ yếu tố VIII < 40% cần quản lý như bệnh nhân hemophilia A mức độ nhẹ.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN ĐÃ ĐƯỢC CÔNG BỐ

I. ĐĂNG TRÊN TẠP CHÍ TRONG NƯỚC

1. Nguyễn Anh Trí, **Nguyễn Thị Mai**, Nguyễn Thị Nữ, Ngô Huy Minh, Lưu Thị Hà (2012). Nghiên cứu phát hiện hemophilia dựa vào phả hệ gia đình các bệnh nhân đã được chẩn đoán tại viện Huyết học – Truyền máu TW. *Y học Việt Nam*, số 8/2012, trang 566 - 571.
2. Nguyễn Hoàng Hà, Nguyễn Thị Nữ, **Nguyễn Thị Mai**, Nguyễn Anh Trí (2014). Đặc điểm lâm sàng và xét nghiệm của người phụ nữ mang gen hemophilia tại viện Huyết học – Truyền máu TW. *Y học Việt Nam*. tập 423, trang 139 – 143.
3. **Nguyễn Thị Mai**, Vũ Thị Bích Hương, Nguyễn Anh Trí, Bạch Quốc Khánh (2016). Phát hiện người mang gen hemophilia A kết hợp với gen hemophilia B đầu tiên tại Việt Nam, *Y học Việt Nam*, tập 446, trang 404 – 408.

II. ĐĂNG TRÊN TẠP CHÍ NƯỚC NGOÀI

1. **T. Nguyen**, A. Nguyen, T. Nguyen, H. Ngo and T. Luu (2012). Hemophilia patient outreach: Experience of Vietnam, *Haemophilia*, 18 (Suppl. 3), 76 (Abstract)
(Tác giả Nguyễn Thị Mai được viết là **T.Nguyen**)
2. Nguyen Hoang Ha, Nguyen Thi Nu, **Nguyen Thi Mai**, Nguyen Anh Tri, (2014). Characteristics of hemophilia carriers in clinic and testing in National Institute of Hematology and Blood Transfusion, Hanoi, Vietnam, *Haemophilia*, 20 (Suppl. 3), 8. (Abstract)

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Mark W. Skinner (2012). WFH: Closing the global gap - achieving optimal care. *Haemophilia*, 18(Suppl. 4), p. 1-12.
2. Nguyễn Anh Trí, Nguyễn Thị Mai (2009). Quản lí, chẩn đoán và điều trị hemophilia ở Việt Nam: Quá khứ - Hiện tại – Tương lai. *Y học Việt Nam*, 2, p. 3-12.
3. A.M. Street, R.Ljung and S.A.Lavary (2008). Management of carriers and babies with hemophilia. *Haemophilia*, 14(3), p. 181 – 187.
4. Nguyễn Thị Mai, Nguyễn Anh Trí, Bạch Quốc Khánh (2015). Tình hình chăm sóc hemophilia tại viện Huyết học – Truyền máu Trung ương, *Kỷ yếu Hội nghị khoa học thường niên lần thứ tư*, Tổng hội Y học Việt Nam, p. 66-67.
5. Peter Jones, Carol Kasper and Ian Peake (1996). Hemophilia - Facts for Health Care Professionals. *World Health Organization Human Genetics Programme and World Federation of Hemophilia*, p. cover.
6. C. K. Kasper and J. C. Lin (2007). Prevalence of sporadic and familial haemophilia. *Haemophilia*, 13, p. 90 - 92.
7. Bộ Y tế (2014), Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh hemophilia, Hà Nội.
8. A. Srivastava, A. K. Brewer, E. P. Mauser-Bunchoten et al. (2013). Guidelines for the management of Hemophilia. *Haemophilia*, 19, p. 1 -47.
9. A. Miguel Escobar and S.Key Nigel (2016). *Hemophilia A and Hemophilia B*, Williams Hematology, Chapter 123, McGraw - Hill Medical, USA, 2113 - 2132
10. Geoffrey Kemball - Cook and Edward Tuddenham (2005). *Molecular basis of hemophilia A*, Textbook of Hemophilia, Erik E. Berntorp, Christine A. Lee, W.Keith Hoots, Blackwell, p. 19 - 26.

11. Michael U. Callaghan and Randal J. Kaufman (2014). *Cellular processing of factor VIII and factor IX*, 3rd, Textbook of Hemophilia, Erik E. Berntorp and W. Keith Hoots Christine A. Lee, Wiley Blackwell, UK, p.5-12.
12. Randal J. Kaufman (1995). *Structure and Biology of factor VIII*, 2th, Hematology: Basic principles and practice, Edward J. Benz Ronald Hoffman, Churchill Livingstone, p. 1276 - 1284.
13. Evgueni L. Saenko and Natalya M. Ananyeva (2005). *Hemophilia A: role of factor VIII in coagulation*, Textbook of Hemophilia, Erik E. Berntorp, Christine A. Lee, W. Keith Hoots, Blackwell Publishing, p. 27 - 33.
14. Graw J, Brackmann HH, Oldenburg J et al (2005). Haemophilia A: from mutation analysis to new therapies. *Nat Rev Genet*, 6(6).
15. Ware J, Shima M, Yoshioka A, Fukui H, Fulcher CA (1989). An arginine to cysteine amino acid substitution at a critical thrombin cleavage site in a dysfunctional factor VIII molecule. *Blood*, p. 74.
16. Lavend'home R, Jacquemin M, Benhida A et al (2010). A novel cause of mild/moderate hemophilia A: mutation scattered in the factor VIII C1 domain reduce factor VIII binding to von Willebrand factor. *Blood*, 96, p. 958-65.
17. Goodeve AC and Peake I (2003). The molecular basis of hemophilia A: genotype-phenotype relationships and inhibitor development. *Semin Thromb Hemost*, 29(1), p. 23-30.
18. Kun Soo Lee, Ye Jee Shim (2010). Genetic Risk Factors of Hemophilia A. *J Genet Med*, 7(1), p. 1-8.
19. Andrikovics H, Klein I, Bors A et al. (2003). Analysis of large structural changes of the factor VIII gene, involving intron 1 and 22, in severe hemophilia A. *Haematologica*, 88, p. 778-84.

20. Waseem N, Bagnall RD, Green PM, Giannelli F (2002). Recurrent inversion breaking intron 1 of the factor VIII gene is a frequent cause of severe hemophilia A. *Blood*, 99, p. 168-74.
21. Kazazian H.H, Jr Lakich D, et al (1993). Inversions disrupting the factor VIII gene are a common cause of severe haemophilia A. *Nature Genet*, 5, p. 236-241.
22. National Institutes of Health Talking Glossary of Genetic Terms, at <https://www.genome.gov/glossary/index.cfm?textonly=&search=pedigree>, truy cập 7/5-2016.
23. The New England public health genetics education collaborative (2010). Understanding Genetics: A New England Guide for Patients and Health Professionals. *Posted in the Resource Repository at: <http://www.resourcerepository.org/documents/1868/understandinggenetics:anewengl andguideforpatientsandhealthprofessionals/>*.
24. Trịnh Văn Bảo, Phan Thị Hoan (2016). *Lược sử - Nội dung - Phương pháp nghiên cứu di truyền học người*, Di truyền y học, Bộ Y tế, Tái bản lần thứ 5, Nhà xuất bản Y học, tr. 17 - 19.
25. The New York - Mid-Atlantic consortium for genetic and newborn screening service (2009). Understanding genetic - A New York, Mid Atlantic guide for patients and health professionals. *Posted in the Resource Repository at: <http://www.resourcerepository.org/documents/1247/understandinggenetics:anewyork, midatlanticguideforpatientsandhealthprofessionals/>*.
26. Robin L. Bennett (2012). The family medical history as a tool in preconception consultation. *J Community Genet*, 3, p. 1750-183.
27. Bennet et al. (1995). Recommendation for standadized human pedigree nomenclature *Ann J hum Genet*, 56, p. 745-52.

28. R. L. Bennett, K. S. French, R. G. Resta et al. (2008). Standardized human pedigree nomenclature: update and assessment of the recommendations of the National Society of Genetic Counselors. *J Genet Couns*, 17(5), p. 424-33.
29. Gelbart WM, Griffiths AJF, Miller JH et al. (1999). *Human Pedigree Analysis*, Modern Genetic Analysis, W. H. Freeman, NewYork.
30. Richa Mohan, Michael Alabek, Mariana H. Raia (2015). *Genetic counselling for hemophilia*, Treatment for hemophilia, Vol. 25, World Federation of Hemophilia.
31. Kenneth D. Friedman and George M Rodgers (2014). *Wiltrobe's Clinial Hematology*, Inherited coagulation disorders, Daniel A. Arber John P Greer, Bertil Glader, Vol 2, 13th edition, Lippincott William & Wilkins, p. 1379 - 1424.
32. Eveline P. Mauser-Bunschoten (2008). *Symtomatic carrier of hemophilia*, Treatment of Hemophilia, World Federation of Hemophilia, Vol. 46.
33. Carold K. Kasper and Carolyn H. Buzin (2007). *Genetics of hemophilia A and B - An introduction for clinicians*, The CSL Behring foundation for reseach and advancement of patient health.
34. Jones PK. Ratnoff OD (1977). The laboratory diagnosis of the carrier state for classic hemophilia. *Ann Intern Med*, 86(5), p. 521-528.
35. Fishman DJ, Jones PK and Menitove JE et al (1982). Detection of the carrier state for classic hemophiliusing an enzym - linked immunosorbent assay (ELISA) *Blood*, 59, p. 1163-1168.
36. Oscard D. Ratnoff, Theodore S. Zimmerman, and Arthur S.Litrell (1971). Detection of Carriers of Classic Hemophilia Using an Immunologic Assay for Antihemophilic Factor (Factor VIII). *The Journal of Clinical Investigation* 50, p. 255-258.

37. Marshall B. Jones, M. Elaine Eyster , Theresa Moore M.T et al. (1976). Carrier Detection in Classic Hemophilia by Combined Measurement of Immunologic (VIII AGN) and Procoagulant (VIII AHF) Activities *American Society of Clinical Pathologists*, 65, p. 975-981.
38. CR Rizza, JB Graham, J Chediak, PM Mannucci et al. (1986). Carrier detection in hemophilia A: a cooperative international study I: The carrier phenotype. *Blood*, 67(6), p. 1554-1559.
39. Dipika Mohanty (2001). *Carrier detection and prenatal diagnosis in Haemophilia families in developing countries*, Comprehensive haemophilia care in developing countries, World Federation of Hemophilia.
40. M Abiera J Padre, F Hernamdez (2004). Phenotypic analysis using ratio of FVIII:C and vWF:Ag among hemophilia A obligate carrier. *Hemophilia*, 10(Suppl. 3), p. 3.
41. T Ruchutrakool, K prayongratana, Y Nakkinkun, S Issaragrilsil (2006). Use of FVIII:C and vWF:Ag ratio in the detection of Hemophilia A carriers. *Hemophilia*, 12(Suppl. 2), p. 11.
42. Jayandharan G.R (2012). Role of Molecular Genetics in Hemophilia: From Diagnosis to Therapy. *Seminars in Thrombosis & Hemostasis*, 38, p. 64-78.
43. Mike Mitchell and Anne Goodeve and Steve Keeney (2010). Practice Guidelines for the Molecular Diagnosis of Haemophilia A. *Clinical Molecular Genetic Society*.
44. Anne Goodeve (2008). Molecular Genetic Testing of Hemophilia A. . *Thrombosis and hemostasis*, 34(6), p. 491-501.

45. Peake, I. R., Lillicrap, D. P., Boulyjenkov, et al. (1993). Haemophilia: strategies for carrier detection and prenatal diagnosis. *Bulletin of the World Health Organization*, 71(3-4), 429–458.
46. Nguyễn Thị Mai, Phạm Quang Vinh, Nguyễn Anh Trí (2010). Chẩn đoán di truyền và chẩn đoán người mang gen hemophilia. *Một số chuyên đề Huyết học - Truyền máu*, tập 3, Nhà xuất bản Y học, trang 236-241
47. Vũ Thị Bích Hương, Trần Tuấn Anh (2014). Phân tích liên kết trong chẩn đoán di truyền. *Một số chuyên đề Huyết học - Truyền máu*, tập 4, Nhà xuất bản Y học, trang 229-309.
48. Rezan Kadir and Christine A. Lee (2005). Obstetrics and gynecology:hemophilia, trong Erik E. Berntorp Christine A. Lee, W.Keith Hoots, *Textbook of Hemophilia*, Blackwell, p. 249-256.
49. Phạm Quang Vinh (2006). *Bệnh hemophilia*, Bài giảng Huyết học - Truyền máu sau đại học, Bộ môn Huyết học - Truyền máu, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, trang 270 - 279.
50. Joya Donnelly (2008). Patient Outreach Guide for Hemophilia and Other Bleeding Disorders. *World Federation of Hemophilia*.
51. World Federation of Hemophilia (2015). Report on the Annual Global Survey 2014. *World Federation of Hemophilia*,, p. 19.
52. World Federation of Hemophilia (2014). Report on the Annual Global Survey 2013, p. 8.
53. G. Hernandez (2010). Strategies for indentification. *Haemophilia*, 16(Suppl. 4), p. 9.
54. R.C. Gaitan Fitch (2010). Patient outreach: catch them early: Mexican experience. *Haemophilia*, 16 (Suppl. 4), p. 9.
55. C. K. Kasper and J. C. Lin (2010). How many carriers are there? *Haemophilia*, 16, p. 840-842.

56. Shristi Shetty, Kanjaksha Ghosh, Amarnath Bhide et al. (2001). Carrier detection and prenatal diagnosis in haemophilia families. *The National medical journal of India*, 14(2), p. 81 - 83.
57. M. Singh and H. Kaur (2002). Assessment of the carrier status by pedigree analysis in some families from India. *Haemophilia*, 8, p. 680-684.
58. Cung Thị Tý và cộng sự (1997). Tình hình bệnh Hemophilia ở một số địa phương miền bắc Việt Nam. *Đề tài nghiên cứu cấp bộ đã nghiệm thu*.
59. Novo Nordisk Haemophilia Foundation (2012). Completed projects, NNHF Activity report 2011/2012: Together delivering life - changing action, *Novo Nordisk Haemophilia Foundation*, Switzeland, 50.
60. Novo Nordisk Haemophilia Foundation (2012). Over coming distance and connecting people, NNHF Activity report 2011/2012: Together delivering life - changing action, *Novo Nordisk Haemophilia Foundation*, Switzeland, p22.
61. Nguyễn Anh Trí, Nguyễn Thị Mai, Nguyễn Thị Nữ (2011). Thực trạng công tác chăm sóc hemophilia tại Việt Nam và định hướng phát triển trong thời gian tới. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 381, tr. 146-152.
62. Phạm Quang Vinh, Nguyễn Thị Mai, Nguyễn Minh Phương (2007). Ứng dụng phương pháp PCR-RFLP với vị trí cắt của enzym BclI chẩn đoán người mang gen bệnh trong gia đình bệnh nhân hemophilia A tại Việt Nam. *Tạp chí Nghiên cứu khoa học*, 50, tr. 1-7.
63. Nguyễn Thị Mai, Nguyễn Anh Trí, Phạm Quang Vinh và cộng sự (2010). Nghiên cứu khả năng xác định người mang gen bệnh hemophilia A bằng phân tích một số yếu tố đông máu. *Y học Việt Nam*, 373, trang 244-252.
64. Nguyễn Thị Mai, Vũ Thị Bích Hương, Nguyễn Thị Nữ và cộng sự. (2014). Nghiên cứu tần suất đảo đoạn intron 22, đảo đoạn intron 1 gen

- yếu tố VIII và tình trạng có chất ức chế yếu tố VIII ở bệnh nhân hemophilia A mức độ nặng. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 423, tr. 219-224.
65. Lưu Vũ Dũng, Trần Huy Thịnh, Tạ Thành Văn và cộng sự (2014). Phát hiện đột biến gen F8 gây bệnh hemophilia A. *Nghiên cứu Y học*, Phụ trương số 9(5), p. 13-18.
 66. Bùi Thị Thu Hương (2014). *Nghiên cứu xác định người lành mang gen và ứng dụng chẩn đoán trước sinh bệnh hemophilia A*, Luận văn tiến sĩ, Đại học Y Hà Nội, Hà Nội.
 67. Kenneth D. Friedman and George M. Rodgers (2014). *Inherited Coagulation disorders*, Wintrobe's Clinical Hematology, 13th edition, Vol. 2, Lippincot Williams and Wilkins, p.1143 - 1185
 68. F. Rodeghiero, A. Tosetto, T. Abshire et al. (2010). ISTH/SSC bleeding assessment tool: a standardized questionnaire and a proposal for a new bleeding score for inherited bleeding disorders. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 8(9), p. 2063-2065.
 69. Đỗ Trung Phần (2006). *Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và Truyền máu ứng dụng trong lâm sàng*, Nhà xuất bản Y học.
 70. Steve Kitchen, Angus McCraw and Marión Echenagucia (2010). *Diagnosis of Hemophilia and Other Bleeding Disorders*, 2, World Federation of Hemophilia.
 71. M. Greinera, D. Pfeiffer and R.D. Smith (2000). Principles and practical application of the receiver-operating characteristic analysis for diagnostic tests. *Preventive Veterinary Medicine* 45, p. 23-41.
 72. Jane V. Carter, Jianmin Pan, Shesh N. Rai et al. (2016). ROC-ing along: Evaluation and interpretation of receiver operating characteristic curves. *Surgery*, 159, p. 1638-45.

73. Nguyễn Văn Tuấn (2010). Diễn giải nghiên cứu tiên lượng ROC (Receiver Operating Characteristic), tại <http://timmachhoc.vn/y-hoc-thuc-chung/240-din-gii-nghien-cu-tien-lng-roc-receiver-operating-characteristic.html>, Hội Tim mạch thành phố Hồ Chí Minh, truy cập 23/5/2017.
74. Nadja Bogdanova, Arseni Markoff, Hartmut Pollmann et al. (2005). Spectrum of Molecular Defects and Mutation Detection Rate in Patients With Severe Hemophilia A. *HUM Mutat*, 26(3), p. 249 - 254.
75. Nguyễn Anh Trí, Nguyễn Thị Mai, Nguyễn Thị Nữ và cộng sự (2006). Đặc điểm lâm sàng và dịch tễ bệnh nhân Hemophilia tại Viện Huyết học – Truyền máu Trung ương năm 2005. *Y học thực hành*, 545, p. 57-61.
76. Mai Nguyen Thi, Nguyen Anh Tri, Bach Quoc Khanh (2016). Hemophilia care in National Institute of Hematology and Blood transfusion, Hanoi, Vietnam. *Haemophilia*, 22(Suppl. 4), p. 54.
77. Yan ZY, Liang Y, Yan M et al. (2008). Frequency of intron 1 inversion of factor VIII gene in Chinese hemophilia A patients with case report of a female patient with heterozygous intron 1 inversion. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2008 Oct 1;88(38):2672-4
78. A. M. Cumming - on behalf of the UK Hemophilia Centre Doctor' Organisation (UKHCDO) and Hemophilia genetic laboratory network (2004). The factor VIII gene intron 1 inversion mutation: prevalence in severe hemophilia A in UK. *Journal of Thrombosis and Hemostasis*, 2(1), p. 205 - 206.
79. Johanna Milena Mantilla-Capacho, Claudia Patricia Beltrán-Miranda, Hilda Luna-Záizar et al. (2007). Frequency of intron 1 and 22 inversions of factor VIII gene in Mexican patients with severe hemophilia A. *American Journal of Hematology*, 82(4), p. 283-287.

80. A. Goodeve (2008). Molecular genetic testing of hemophilia A. *Semin Thromb Hemost*, 34(6), p. 491-501.
81. M. Margaglione, G. Castaman, M. Morfini et al. (2008). The Italian AICE-Genetics hemophilia A database: results and correlation with clinical phenotype. *Haematologica*, 93(5), p. 722-8.
82. Mai Nguyen Thi, Nguyen Van Khanh, Luu Thi Ha et al. (2016). Research on characteristics and causes of death in hemophilia patients managed in National Institute of Hematology and Blood transfusion. *Haemophilia*, 22(Suppl. 4), p. 93.
83. Trần Thị Phương Túy, Nguyễn Ngọc Minh, Nguyễn Văn Tránh và cộng sự. (2007). Tìm hiểu tính chất gia đình của bệnh nhân hemophilia điều trị tại bệnh viện Trung ương Huế. *Nghiên cứu Y học*, 4(51), p. 20-25.
84. Krasaesub S and Chuansumrit A. (2001). Survival analysis of patients with haemophilia in a treatment centre in Thailand. *Thromb Haemost*, 87 (suppl): 1095.
85. Ampaiwan Chuansumrit, Chularatana Mahasandana, Yingyong Chinthammitr et al. (2004). National survey of patient with hemophilia and other congenital bleeding disorders in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 35(2), p. 445-449.
86. B.L.Evatt and L. Robillard (2000). Establishing haemophilia care in developing countries: using data to overcome the barrier of pessimism. *Haemophilia*, 6, p. 131 – 134.
87. I. Varekamp, Th.P.B.M. Suurmeijer, A.H.J.T. Bröcker-Vriends et al. (1990). Carrier Testing and Prenatal Diagnosis for Hemophilia: Experiences and Attitudes of 549 Potential and Obligate Carriers. *American Journal of Medical Genetics* 37, p. 147-154.

88. P. Fleming, L. Percy and J. Ehrhardt (2006). Outreach to obligate and potential carriers of hemophilia A and B. *Haemophilia*, 12(Suppl.2), p. 12.
89. U. Tedgaerd and R. Ljung and T.F.Mcneil (1999). Reproductive choices of haemophilia carriers. *British Journal of Haematology*, 106, p. 421 - 426.
90. C. Ay, K. Thom, F. Abu-Hamdeh et al. (2010). Determinants of factor VIII plasma levels in carriers of haemophilia A and in control women. *Haemophilia*, 16(1), p. 111-7.
91. Veerle Labarque, Vanithaperinparajah, Vanessa Bouskill et al. (2016). The Factor VIII to von Willebrand Factor antigen (FVIII/VWF:Ag) ratio could be helpful in identifying carriers of hemophilia A. *Haemophilia*, 22(Suppl. 4), p. 16.
92. S. Shetty, K. Ghosh, A. Pathare et al. (1999). Carrier detection in haemophilia A families: comparison of conventional coagulation parameters with DNA polymorphism analysis - first report from India, 5, p. 243-246.
93. M Singh and P. Singh (2006). Carrier assessment of hemophilia A and B by pedigree analysis and DNA polymorphism of BclII/intron 18 and XmnI/intron 3. *Haemophilia*, 12(Suppl. 2).
94. M Pecorara, L Casarino, PG Mori et al. (1987). Hemophilia A: carrier detection and prenatal diagnosis by DNA analysis. *Blood*, 70(2), p. 531-535.
95. R. P. Ahmed, P. K. Gupta, M. Kannan et al. (2004). Hemophilia A: role of FVIIIIC/vWF Ag in assisting linkage analysis for carrier detection. *Clin Appl Thromb Hemost*, 10(2), p. 127-31.
96. Vũ Thị Minh Châu (2001). *Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng của bệnh nhân hemophilia A gặp ở viện Huyết học – Truyền máu*, Luận văn tốt nghiệp chuyên khoa II, Trường đại học Y Hà Nội.

97. C. Jousselme, V. Demigue, A. Rafowicz et al. (2010). Age at diagnosis of hemophilia: update from the French registry “FranceCoag Network”. *Haemophilia*, 16(Suppl.4), p. 22.
98. P. de Moerloose, J. F. Schved and D. Nugent (2016). Rare coagulation disorders: fibrinogen, factor VII and factor XIII. *Haemophilia*, 22, p. 61-65.
99. A. Girolami, R. Venturelli, G. Cella et al. (1976). Combined hereditary deficiency of factors VII and VIII: a distinct coagulation disorder due to the 'lack' of an autosomal gene controlling factor VII and VIII activation? *Acta Haematol*, 55(3), p. 181-91.
100. A. Girolami, R. Dal Bo Zanon, F. Fabris et al. (1977). Combined factor VII and factor VIII deficiency due to a casual association of heterozygosis for factor VII deficiency and hemophilia A. *Acta Haematol*, 58(4), p. 246-54.
101. A. Girolami, E. Ruzzon, F. Tezza et al. (2007). Congenital combined defects of factor VII: a critical review. *Acta Haematol*, 117(1), p. 51-6.
102. S. J. Machin and B. R. Miller (1980). Congenital combined factor VII and factor VIII deficiency. *Acta Haematol*, 63(3), p. 167-9.
103. Marilyn Manco - Johnson, Roshni Kulkarni, Brandi Dupervi et al. (2016). Joint Outcomes in United States (US) Hemophilia Patients: a report of the Community Counts Registry. *Haemophilia*, 22(Suppl. 4), p. 26.
104. Trần Thị Phương Túy, Nguyễn Văn Tránh, Nguyễn Văn Bông và cộng sự. (2009). Tìm hiểu đặc điểm cơ xương khớp ở bệnh nhân hemophilia điều trị tại trung tâm Huyết học Truyền máu. *Y học Việt Nam*, 2/2009, p. 108 – 114.
105. Soon Ki Kim, HWI Joong Yoon, Sang Kyu Park et al. (2016). Korea Hemophilia Foundation registry trends 1991–2014: Patient registry, demographics, health services utilization. *Haemophilia*, 22(Suppl. 4), p. 26.

106. Nguyễn Thị Nữ, Cung Thị Tý, Hoàng Thảo Nguyên (1994). *Nhận xét về giá trị của một số xét nghiệm đánh giá đường đông máu nội sinh trong chẩn đoán và theo dõi điều trị bệnh hemophilia*, Công trình nghiên cứu khoa học Hội nghị khoa học ngành Huyết học - Truyền máu Việt Nam, Nhà xuất bản Y học.
107. Trần Thị Vân Hà (2011). *Nghiên cứu sự thay đổi một số xét nghiệm đông cầm máu trên bệnh nhân hemophilia tại viện Huyết học – Truyền máu TW*, Luận văn bác sĩ chuyên khoa II, Trường Đại học Y Hà Nội.
108. MD Bruce Evatt (2005). “World Federation of Hemophilia Guide to Developing a National Patient Registry”. *World Federation of Hemophilia*,, p. 1.
109. Kathy Mulder (2006). *Exercises for People with Hemophilia*, World Federation of Hemophilia.
110. Harold R.Roberts, Miguel Escobar and Gilbert C White II (2006). *Hemophilia A and Hemophilia B*, Williams Hematology, Vol. 7th, Mcgraw– Hill Medical publishing Division.
111. Allison Paroskie, Olatunde Ooso, Benjamin Almassi et al. (2012). Discordance in Provider Practice Patterns and Hemophilia A Carrier Health Care Preferences. *Blood*, 120(21), p. 3385.
112. A. Olsson, R. Ljung, M. Hellgren et al. (2016). Phenotype and genotype comparisons in carriers of haemophilia A. *Haemophilia*, 22(3), p. e235-e237.
113. S. Shetty, K. Ghosh, S. Parekh et al. (2001). Combined factor VIII and IX deficiency in a family. *Clin.Lab Haematol.*, 23(3), p. 201-204.
114. I. Plug, E. P. Mauser-Bunschoten, A. H. Brocker-Vriends et al. (2006). Bleeding in carriers of hemophilia. *Blood*, 108(1), p. 52-6.

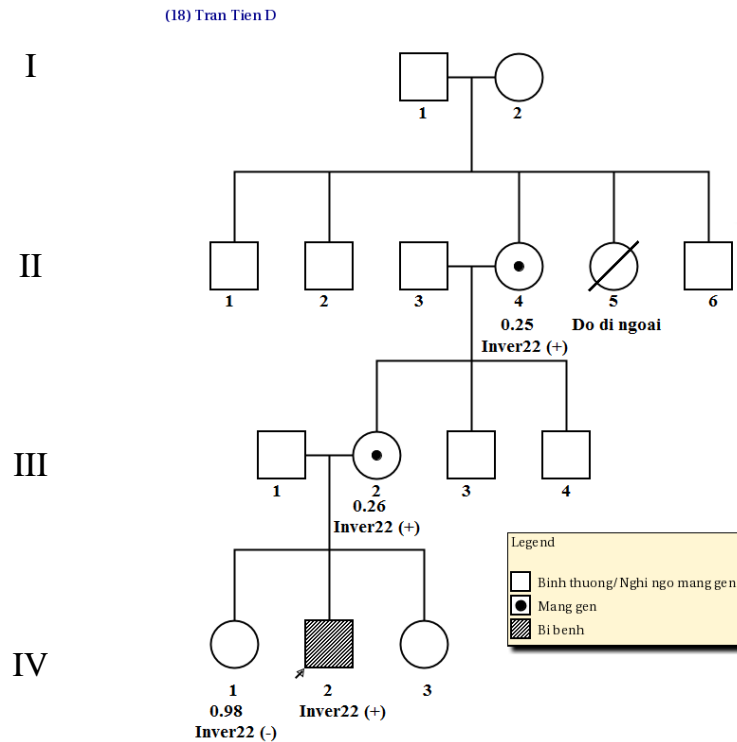
115. A. Paroskie, O. Oso, B. Almassi et al. (2014). Both hemophilia health care providers and hemophilia a carriers report that carriers have excessive bleeding. *J Pediatr Hematol Oncol*, 36(4), p. e224-30.
116. W. Miesbach, S. Alesci, C. Geisen et al. (2011). Association between phenotype and genotype in carriers of haemophilia A. *Haemophilia*, 17, p. 246 - 251.
117. A. Paroskie, D. Gailani, M. R. DeBaun et al. (2015). A cross-sectional study of bleeding phenotype in haemophilia A carriers. *Br J Haematol*, 170(2), p. 223-8.
118. C. A. Lee, C. Chi, S. R. Pavord et al. (2006). The obstetric and gynaecological management of women with inherited bleeding disorders--review with guidelines produced by a taskforce of UK Haemophilia Centre Doctors' Organization. *Haemophilia*, 12(4), p. 301-36.
119. F. Y. Huq and R. A. Kadir (2011). Management of pregnancy, labour and delivery in women with inherited bleeding disorders. *Haemophilia*, 17 Suppl 1, p. 20-30.
120. O. Lavee and G. Kidson-Gerber (2016). Update on inherited disorders of haemostasis and pregnancy. *Obstet Med*, 9(2), p. 64-72.
121. R. F. Sidonio, F. D. Mili, T. Li et al. (2014). Females with FVIII and FIX deficiency have reduced joint range of motion. *Am J Hematol*, 89(8), p. 831-6.
122. L. Gilbert, L. Rollins, M. Hilmes et al. (2014). Haemophilia A carriers demonstrate pathological and radiological evidence of structural joint changes. *Haemophilia*, 20(6), p. e426-9.
123. Becki Berkowitz, Amber Federizo, Garrett E. Bergman et al. (2015). Large Cohort of Symptomatic Female Carriers of Hemophilia in an Extended Native American Family. *Blood*, 126(23), p. 4700-4700.

124. Proctor RR and Rapaport SI (2001). The partial thromboplastin time with kaolin: a simple screening test for first stage clotting factor deficiencies. *AJ ClinPathol*, 36, p. 212-219.
125. John B.Graham, Connie H. Miller, Howard M. Reisner et al. (1976). The phenotypic range of Hemophilia A carriers. *Am J Hum Genet* 28, p. 482 – 488.
126. Ana Rebeca Jaloma-Cruz et al (2012). Genotype-Phenotype Interaction Analyses in Hemophilia at Available from:
<http://www.intechopen.com/books/hemophilia/genotype-phenotype-interaction-analyses-in-hemophilia>, truy cập 24/5/2017.
127. Morange PE, Tregouet DA, Frere C et al. (2005). Biological and genetic factors influencing plasma factor VIII levels in a healthy family population: results from the Stanislas cohort. *Br J Haematol*, 128 (1), p. 91-99.
128. E. Funding, K. Christiansen and L. H. Poulsen (2015). Factor levels in carriers of haemophilia are associated with familial severity: a Danish single centre study. *Haemophilia*, 21, p. e411 - e455.
129. Dương Bá Trực, Nguyễn Anh Trí, Nguyễn Thị Mai và cộng sự (2011). *Hướng dẫn quản lý và điều trị bệnh hemophilia*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
130. L. Gilbert, A. Paroskie, D. Gailani et al. (2015). Haemophilia A carriers experience reduced health-related quality of life. *Haemophilia*, 21(6), p. 761-5.
131. Steve Keeney, Mike Mitchell and Anne Goodeve (2010). Practice Guidelines for the Molecular Diagnosis of Haemophilia A. United Kingdom Haemophilia Centre Doctor'Organisation, chủ biên, Clinical Molecular Genetics Society.
132. Azza A. G. Tantawy (2010). Molecular genetics of hemophilia A: Clinical perspectives. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 11(2), p. 105-114.

PHỤ LỤC

PHỤ LỤC 1

MỘT SỐ SƠ ĐỒ PHẢ HỆ CỦA BỆNH NHÂN HEMOPHILIA



Sơ đồ 6.1 Phả hệ gia đình bệnh nhân Trần Tiến Đ. (số 18)

Nhận xét:

- Gia đình bệnh nhân Trần Tiến Đ, hemophilia A mức độ nặng có duy nhất bệnh nhân bị bệnh. Đây là một trường hợp đơn phát. Phân tích phả hệ gồm 4 đời chúng tôi nhận thấy các thành viên I:2, II:4, II:5, III:2, IV:1 và IV:3 là người có khả năng mang gen do có quan hệ huyết thống bên mẹ với bệnh nhân..

- Phân tích di truyền cho thấy bệnh nhân Đ. có đảo đoạn intron 22 là một đột biến hay gặp trên gen yếu tố VIII.

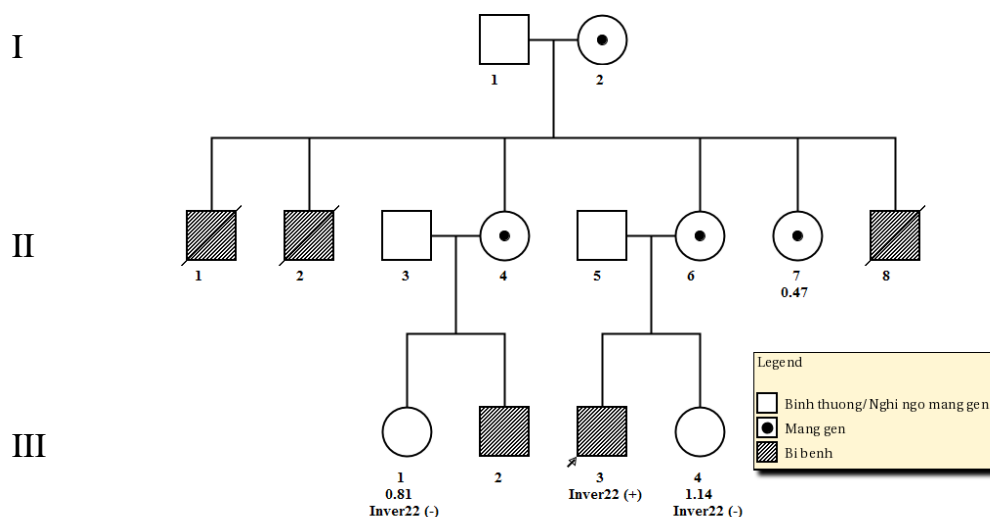
- Áp dụng định lượng yếu tố VIII, vWF:Ag và phân tích đảo đoạn intron 22 cho các thành viên II:4, III:2, IV:1 là mẹ, bà ngoại, chị gái bệnh nhân, những người có khả năng mang gen, kết quả như sau:

Bảng 6.1. Kết quả chẩn đoán tình trạng mang gen của một số thành viên nữ gia đình số 18

Thành viên	Tỉ số VIII/vWF:Ag	Đảo đoạn intron 22	Tình trạng mang gen
Mẹ (III:2)	0,26	Có	Có
Bà ngoại (II:4)	0,25	Có	Có
Chị gái (IV:1)	0,98	Không	Không

Như vậy kết quả phân tích yếu tố đông máu và phân tích di truyền cho kết quả tương đồng là mẹ và bà ngoại bệnh nhân có mang gen, chị gái bệnh nhân không mang gen.

(23) Phạm Ngọc Thang



Sơ đồ 6.2. Phả hệ gia đình bệnh nhân Phạm Ngọc T. (số 23)

Nhận xét:

- Bệnh nhân Phạm Ngọc T., hemophilia A mức độ nặng có đảo đoạn intron 22. Phân tích phả hệ và sàng lọc bằng bộ câu hỏi phát hiện gia đình

bệnh nhân có 1 anh họ con bác gái (III:2) và 3 cậu (II:1, II:2, II:8) có biểu hiện chảy máu bất thường, trong đó cả 3 cậu đã chết vì chảy máu. Anh họ bệnh nhân (III:2) được làm xét nghiệm, kết quả bị bệnh.

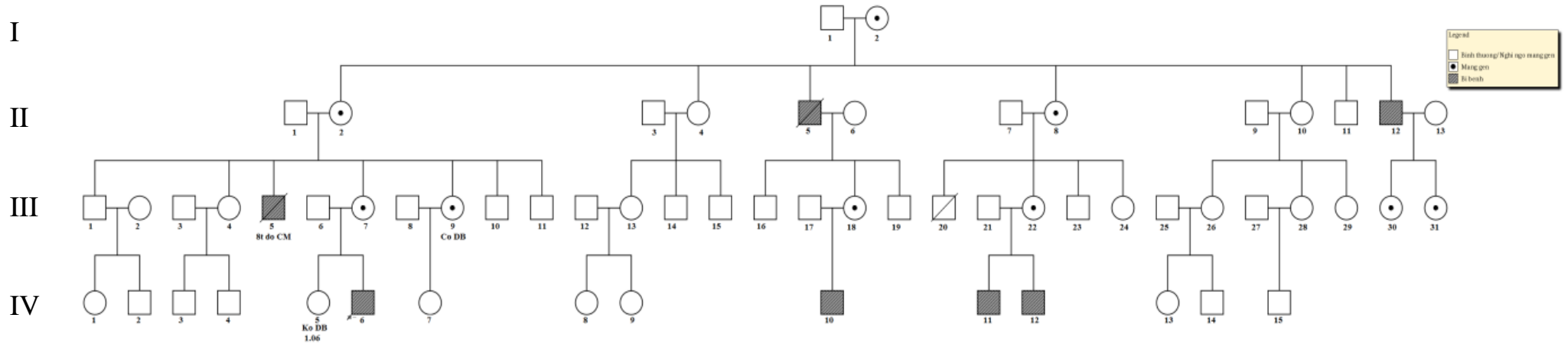
- Mẹ bệnh nhân II:6 và bác bệnh nhân II:4 là người chắc chắn mang gen do có 1 con và 1 cháu bị hemophilia.

- Bà ngoại bệnh nhân là I:2 là người chắc chắn mang gen do có 3 con bị hemophilia.

- Dì bệnh nhân II:7, chị họ bệnh nhân III:1 và em gái bệnh nhân III:4 là người có khả năng mang gen. Phân tích yếu tố đông máu và phân tích di truyền cho kết quả như sau: Chị họ và em bệnh nhân không mang gen còn dì mang gen.

Bảng 6.2. Kết quả chẩn đoán tình trạng mang gen của một số thành viên nữ gia đình số 23

Thành viên	Tỉ số VIII/vWF:Ag	Đảo đoạn intron 22	Tình trạng mang gen
Dì (II:7)	0,47	Có	Có
Chị họ (III:1)	0,81	Không	Không
Em gái (III:4)	1,14	Không	Không



Sơ đồ 6.3. Phả hệ bệnh nhân Nguyễn Đăng D. (số 98)

Nhận xét:

- Bệnh nhân Nguyễn Đăng D. (IV:6) là bệnh nhân hemophilia mức độ nặng, được xác định có đột biến mất 1 nucleotid A trên exon số 14 (c.2945 del A) gây thay thế acid amin Asparagine thành Lysin tại vị trí codon 963 làm lệch khung dịch mã toàn bộ các acid amin còn lại (p.Asn963Lys).

- Gia đình bệnh nhân D. có 6 thành viên nam giới là II:5, II:12, III:5, IV:10, IV:11, IV:12 có bất thường chảy máu trong đó II:5 và III:5 đã tử vong. Xét nghiệm cho 4 thành viên còn sống xác định cả 4 đều bị bệnh.

- Các thành viên nữ I:2, II:2, II:8, III:7, III:18, III:22, III:30, III:31 chắc chắn mang gen bệnh do:

+ I:2, III:22: Có 2 con bị bệnh.

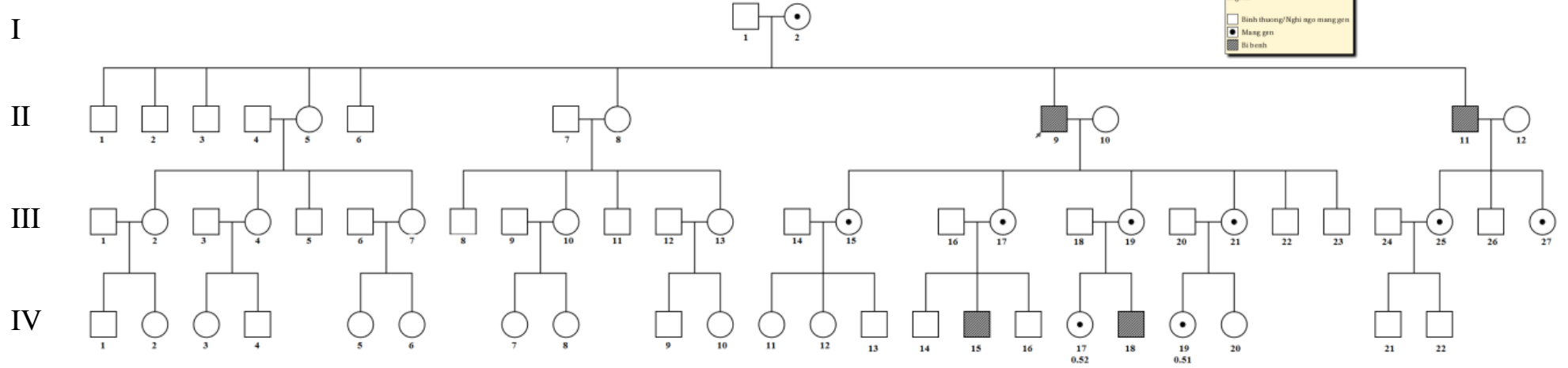
+ III:18, III:30, III:31: Có bố bị hemophilia.

+ II:2, III:7, III:9: Có 1 con bị bệnh và trong gia đình có thành viên khác bị bệnh.

- Thành viên II:8 là người có khả năng mang gen, chồng là II:7 không bị bệnh lại có con là III:22 mang gen bệnh, vì vậy II:8 là người chắc chắn mang gen, đã truyền gen bệnh từ mẹ cho con gái rồi cho cháu trai (IV:11 và IV:12).

- Các thành viên nữ II:4, II:10, III:4, III:13, III:24, III:26, III:28, III:29, IV:5, IV:7, IV:8, IV:9, IV:13 là người có khả năng mang gen do có thành viên bên ngoài bị hemophilia. Trong số này có 2 người III:9 và IV:5 được phân tích yếu tố đông máu và phân tích di truyền, kết quả là III:9 là người mang gen (có đột biến, VIII/vWF:Ag = 0,54) và IV:6 không mang gen (không mang đột biến, VIII/vWF:Ag = 1,06).

(71) Đỗ Bá Th.



Sơ đồ 6.4. Phả hệ bệnh nhân Đỗ Bá Th. (số 71)

Nhận xét:

- Bệnh nhân Đỗ Bá Th. (II:9) là bệnh nhân mức độ nhẹ, có biểu hiện chảy máu lâu cầm sau chấn thương và sau phẫu thuật. Phân tích phả hệ phát hiện các thành viên nam giới sau có liên quan đến hemophilia: II:1, II:2, II:3, III:5, III:8, III:11, IV:1, IV:4, IV:9, IV:13, IV:14, IV:15, IV:16, IV:18, IV:21, IV:22 trong đó có 2 thành viên là em trai (II:11) và cháu trai (IV:15) có biểu hiện chảy máu bất thường. Vì biểu hiện của gia đình tương đối kín đáo vì vậy chúng tôi quyết định cho tất cả những người nam giới có liên quan trên làm xét nghiệm, tuy nhiên chỉ lấy mẫu được 6 thành viên, kết quả có 2 người có biểu hiện chảy máu và 1 người không biểu hiện chảy máu bị bệnh; 3 người không chảy máu còn lại không bị bệnh. Người không có biểu hiện chảy máu được chẩn đoán lúc 8 tuổi, có thể do tuổi còn nhỏ, lại ít bị va chạm nên triệu chứng của người này chưa bộc lộ.

Bảng 6.3. Kết quả chẩn đoán tình trạng bị bệnh của các thành viên gia đình số 71

Thành viên	Biểu hiện chảy máu lâu cầm	Xét nghiệm định lượng VIII	Tình trạng bệnh
II:11	Có	Có	Bị bệnh
IV:15	Có	Có	Bị bệnh
IV:18	Không	Có	Bị bệnh
IV:13, IV:14, IV:16	Không	Có	Không bị bệnh
II:1, II:2, II:3, III:5, III:8, III:11, IV:1, IV:4, IV:9, IV:21, IV:22	Không	Không	Chưa khẳng định

- Các thành viên I:2, III:15, III:17, III:19, III:21, III:25, III:27 là người chắc chắn mang gen do có 2 con bị bệnh (I:2) và có bố bị hemophilia (những người còn lại). Trong số này có thành viên III:21 có nồng độ yếu tố VIII là 34% vì vậy còn được chẩn đoán là bệnh nhân hemophilia A mức độ nhẹ.

- Các thành viên II:5, II:8, III:2, III:4, III:7, III:10, III:13, IV:2, IV:3, IV:5, IV:6, IV:7, IV:8, IV:10, IV:11, IV:12, IV:20 là người có khả năng mang gen do có thành viên nam giới trong gia đình họ mẹ bị bệnh. Hai thành viên IV:17 và II:19 có tỉ số VIII/vWF:Ag lần lượt là 0,52 và 0,51, vì vậy được chẩn đoán là người mang gen hemophilia A.

PHỤ LỤC 2

KẾT QUẢ PHÁT HIỆN BỆNH NHÂN VÀ NGƯỜI MANG GEN HEMOPHILIA A DỰA TRÊN PHÂN TÍCH PHẢ HỆ

Bảng 6.4. Kết quả xác định bệnh nhân mới qua các bước

	Phân tích phả hệ	Bảng câu hỏi	Định lượng yếu tố đông máu
Số người nghi ngờ/mắc hemophilia	869	347	147

Bảng 6.5. Kết quả xác định tình trạng mang gen của người phụ nữ trong gia đình bệnh nhân hemophilia A bằng các phương pháp

	Phân tích phả hệ	Phân tích đột biến gen F8	Phân tích di truyền liên kết
Người mang gen hemophilia	329	30	8

**PHIẾU ĐIỀU TRA BỆNH NHÂN VÀ NGƯỜI NHÀ BỆNH NHÂN
HEMOPHILIA VỀ TÌNH TRẠNG CHẢY MÁU (MẪU 2)**

Họ và tên: Năm sinh: Giới:

Địa chỉ:

Số điện thoại:

Họ và tên bệnh nhân gốc:.....Mã số.....

Quan hệ với bệnh nhân gốc.....

Xin anh(chị) vui lòng trả lời các câu hỏi sau:

Anh(chị) có biểu hiện sau không?

1. Đau khớp:

Không: Có:

Nếu có:

Ở đâu:Thời điểm xuất hiện:.....

Có tái đi tái lại không?: Đã đi khám ở cơ sở y tế bao giờ chưa?.....

Nếu có, đã được chẩn đoán và điều trị gì:

2. Sưng cơ:

Không: Có:

Nếu có:

Ở đâu: Thời điểm xuất hiện:.....

Số lần bị..... Đã đi khám ở cơ sở y tế bao giờ chưa?:.....

Chẩn đoán khi khám:

3. Chảy máu chân răng:

Không: Có: Số lần bị:

Sau bao lâu thì cầm?.....Có phải xử trí gì không.....

4. Chảy máu mũi:

Không: Có: Số lần bị.....

Sau bao lâu thì cầm.....

5. Chảy máu kéo dài sau nhổ răng (trên 30 phút) hoặc sau khi phẫu thuật:

Không: Có:

Phẫu thuật gì?:..... Sau bao lâu thì cầm:

Có phải xử lý gì không:

6. Chảy máu khó cầm sau đứt tay hoặc vết thương khác:

Không: Có:

Nếu có:

Ở đâu: Sau bao lâu thì cầm:

Có phải xử trí gì không?.....

7. Bầm tím dưới da (tự nhiên hoặc sau va chạm nhẹ):

Không: Có:

Nếu có:

Ở đâu: Kích thước..... Thời điểm xuất hiện:.....

Số lần bị: Đã đi khám ở cơ sở y tế bao giờ chưa?:.....

Chẩn đoán khi khám:

8. Đái ra máu:

Không: Có: Số lần bị:

Có phát hiện bệnh lý về tiết niệu chưa?

Không: Có: Bệnh phát hiện:

9. Đi ngoài ra máu hoặc phân đen:

Không: Có: Số lần bị:

Có phát hiện bệnh lý về dạ dày - ruột chưa?

Không: Có: Bệnh phát hiện:

10. Rong kinh (hơn 7 ngày) hoặc ra máu âm đạo quá nhiều:

Không: Có:

Có hay bị không?..... Bao lâu phải thay băng vệ sinh/lần.....

Số lần rong kinh: Số ngày trung bình:.....

11. Chảy máu kéo dài sau đẻ:

Không: Có: Thời gian chảy máu bao lâu..... Số lần bị:

Có phải can thiệp gì không.....

12. Chảy máu vị trí khác:

Không: Có: Thời gian chảy máu bao lâu:.....Vị trí:

Xin trân trọng cảm ơn!

Ngày điều tra:

Người điều tra:

Dành cho nhân viên y tế:

- **Khám lâm sàng:**.....
.....
.....

- **Chỉ định xét nghiệm:**

Tổng phân tích tế bào máu ngoại vi:

PT:

APTT

TT

Fibrinogen

Kháng đông nội sinh

Định lượng yếu tố VIII/IX:

Các xét nghiệm khác:

- **Kết luận** :.....

PHỤ LỤC 4: DANH SÁCH ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

DANH SÁCH BỆNH NHÂN GỐC

Phả hệ số	Mã số	Họ và tên	Năm sinh	Địa chỉ
1	07006617	Phạm Việt Th.	1959	Nam Định
2	06000730	Trần Văn H.	1984	Hung Yên
3	11006212	Trần Đình Q.	2005	Phú Thọ
4	09005503	Nguyễn Minh Q.	2008	Hà Nội
5	10004708	Đào Minh Đ.	2007	Hà Nội
6	08000650	Lục Sấm P.	1983	Lạng Sơn
7	06001344	Đỗ Trọng Đ.	1985	Phú Thọ
8	06001268	Lê Công H.	1979	Phú Thọ
9	07002860	Đỗ Quang D.	2007	Thanh Hóa
10	12005645	Nguyễn Văn N.	2004	Thái Nguyên
11	06002056	Nguyễn Văn H.	1968	Hà Nội
12	06001449	Nguyễn Xuân S.	1988	Bắc Ninh
13	10001219	Mai Văn H.	1991	Nam Định
14	08001560	Nguyễn Xuân Tr.	1979	Hà Nội
15	14002132	Kiều Đình D.	1972	Hà Nội
16	07000122	Phạm Hữu B.	1990	Thanh Hóa
17	12015064	Trương Công T.	1999	Nghệ An
18	15013691	Trần Tiến Đ.	2012	Bắc Ninh
19	07006012	Phạm Quốc Tr.	2000	Hải Phòng
20	0600746	Nguyễn Gia N.	1993	Hà Nội
21	12010902	Nguyễn Duy A.	2011	Hà Nội
22	06000777	Nguyễn Duy C.	1987	Hung Yên

Phả hệ số	Mã số	Họ và tên	Năm sinh	Địa chỉ
23	06001191	Phạm Ngọc Th.	1997	Ninh Bình
24	06001851	Thân Văn H.	1987	Bắc Giang
25	06003284	Nguyễn Trung D.	1981	Hà Nam
26	07005970	Nguyễn Quang M.	2002	Hà Nội
27	13006969	Nguyễn Thế B.	2010	Hà Nội
28	12012796	Phan Văn T.	1988	Bắc Giang
29	11000176	Hoàng Văn Đ.	2006	Hà Nội
30	10005838	Nguyễn Xuân H.	2000	Hà Nội
31	07006314	Trịnh Văn H.	1983	Hung Yên
32	07010007	Phạm Hoàng N.	1991	Lào Cai
33	09002970	Nguyễn Ngọc S.	1992	Hải Dương
34	06003866	Phạm Văn T.	1991	Hà Nam
35	06002609	Ngô Văn K.	1950	Hà Nội
36	06001578	Phạm Khánh H.	1974	Yên Bái
37	08075085	Nguyễn Kiên Q.	2002	Hung Yên
38	07008823	Mạch Thọ N.	1976	Thanh Hóa
39	13001768	Thân Văn T.	1995	Vĩnh Phúc
40	13014358	Bùi Đăng T.	2008	Vĩnh Phúc
41	08001952	Nguyễn Khả Trọng A.	2003	Thái Bình
42	09001792	Đình Văn Th.	1993	Thái Bình
43	09005596	Nguyễn Quang Th.	2002	Hung Yên
44	06006642	Hoàng Minh D.	1991	Hung Yên
45	09004066	Lê Hoài N.	1985	Phú Thọ
46	07000695	Lê Đức S.	1959	Hà Nội

Phả hệ số	Mã số	Họ và tên	Năm sinh	Địa chỉ
47	06002525	Tạ Công M.	1997	Tuyên Quang
48	06004982	Nguyễn Văn Đ.	1958	Hà Nội
49	06001033	Nguyễn Văn Kh.	1984	Hung Yên
50	12005521	Phạm Phú A.	1996	Bắc Giang
51	07000225	Lê Gia L.	2007	Hà Nội
52	12009151	Nguyễn Thành N.	2011	Hà Nội
53	07006520	Hoàng Văn H.	1991	Hà Nội
54	14000366	Hoàng Quốc V.	2012	Bắc Giang
55	14034423	Lưu Thế Q.	2013	Bắc Giang
56	12001857	Nguyễn Cư Th.	1954	Hà Nội
57	08001098	Hoàng Đình Th.	1986	Hà Nội
58	15009748	Nguyễn Văn Hữu Kh.	2009	Hà Tĩnh
59	11003027	Bùi Quang Kh.	1996	Hải Dương
60	06065454	Phạm Văn Đ.	1978	Thái Bình
61	06003446	Trịnh Quang B.	1971	Bắc Giang
62	10008140	Nguyễn Danh T.	1995	Bắc Giang
63	06000459	Phạm Hoàng M.	1988	Hà Nội
64	10000678	Nguyễn Đình Đ.	2001	Nghệ An
65	12010123	Nguyễn Hà A.	1999	Thanh Hóa
66	07006814	Nguyễn Trung H.	1989	Vĩnh Phúc
67	13013999	Phạm Phú Mi.	2012	Hà Nội
68	06004735	Trần Thanh T.	1994	Hà Nội
69	10009161	Cần Văn Đ.	1996	Hà Nội
70	12001302	Nguyễn Hữu Tuấn A.	2006	Hung Yên

Phả hệ số	Mã số	Họ và tên	Năm sinh	Địa chỉ
71	11003947	Đỗ Bá Th.	1958	Hà Nội
72	08000871	Võ Tá Th.	1991	Hà Tĩnh
73	07007290	Lưu Ngọc Ph.	1985	Thái Bình
74	14000577	Trần Minh T.	2011	Nam Định
75	06002022	Nguyễn Ngọc L.	1987	Hà Nội
76	13009129	Phạm Nguyễn Hải Tr.	2012	Hải Phòng
77	06002417	Nguyễn Như Th.	1980	Hung Yên
78	07005904	Nguyễn Bạch Nh.	1956	Hung Yên
79	14037092	Nguy Thế Tuấn Th.	2013	Bắc Ninh
80	09001827	Phùng Danh S.	1978	Hà Nội
81	06001197	Vũ Minh Đ.	2000	Hải Phòng
82	07007956	Hà Đỗ Ch.	1950	Nam Định
83	07006796	Nguyễn Đức G.	1987	Vĩnh Phúc
84	10008125	Đào Văn T.	2007	Hà Nam
85	06005260	Phan Ngọc Th.	1991	Hung Yên
86	06003917	Lê Duy A.	1977	Thanh Hóa
87	07005690	Phạm Đình Kh.	1999	Thanh Hóa
88	06000288	Mai Ngọc K.	1985	Ninh Bình
89	07006378	Trần Lê Ph.	1982	Vĩnh Phúc
90	07007354	Trần Công C.	1988	Quảng Ninh
91	09005158	Nguyễn Văn Ch.	1987	Bắc Giang
92	12014680	Trương Phú Kh.	2011	Hà Nội
93	11005806	Nguyễn Hoàng Ph.	2010	Hà Nội
94	14007538	Lâm Quang Kh.	2011	Hà Nội

Phả hệ số	Mã số	Họ và tên	Năm sinh	Địa chỉ
95	10001865	Nguyễn Quang Th.	2007	Hung Yên
96	6001530	Đình Đức Th.	1982	Hà Nội
97	9001807	Chu Triệu C.	1956	Hà Nội
98	13020644	Nguyễn Đăng D.	2008	Bắc Giang
99	11006316	Đình Công B.	1955	Hà Nội
100	7009817	Nguyễn Đức T.	1950	Thái Nguyên

DANH SÁCH BỆNH NHÂN MỚI ĐƯỢC PHÁT HIỆN

Stt	Phả hệ số	Mã số	Họ Tên	Năm sinh	Chẩn đoán	Địa chỉ
1.	1	12000802	Trịnh Lê Bảo Q.	2010	Hemophilia A	Nam Định
2.	2	13011443	Đặng Hoàng L.	2012	Hemophilia A	Hà Nội
3.	4	11008542	Hoàng Khắc D.	2002	Hemophilia A	Nghệ An
4.	5	13017056	Đỗ Hải L.	2012	Hemophilia A	Hà Nội
5.	5	14036423	Vũ Bình A.	1940	Hemophilia A	Hà Nội
6.	5	14002150	Vũ Đình H.	1979	Hemophilia A	Hà Nội
7.	6	07000801	Đỗ Hải N.	2005	Hemophilia A	Lạng Sơn
8.	6	1606987	Nguyễn Hoàng B.	2015	Hemophilia A	Lạng Sơn
9.	7	07009450	Nguyễn Minh Q.	1999	Hemophilia A	Phú Thọ
10.	7	11006213	Bùi Đức A.	2009	Hemophilia A	Phú Thọ
11.	8	06002986	Lê Đức B.	1998	Hemophilia A	Phú Thọ
12.	8	10008181	Lê Văn V.	2008	Hemophilia A	Phú Thọ
13.	10	12007061	Phùng Bá C.	2011	Hemophilia A	Thái Nguyên
14.	11	09004432	Nguyễn Đức H.	2005	Hemophilia A	Hà Nội
15.	12	11004509	Nguyễn Đình V.	2010	Hemophilia A	Bắc Ninh
16.	12	12011490	Nguyễn Đức D.	2012	Hemophilia A	Bắc Ninh
17.	12	16036162	Vũ Đặng Quốc A.	2013	Hemophilia A	Bắc Ninh
18.	13	101789	Mai Văn Th.	1974	Hemophilia A	Nam Định
19.	13	14033078	Mai Thanh H.	1994	Hemophilia A	Nam Định
20.	13	13002992	Nguyễn Minh Đ.	2011	Hemophilia A	Nam Định
21.	13	13008920	Đình Long Ch.	2012	Hemophilia A	Nam Định
22.	14	13025149	Bùi Minh Th.	2009	Hemophilia A	Hà Nội
23.	15	09002992	Nguyễn Đức T.	1990	Hemophilia A	Hà Nội
24.	15	15017301	Lê Quang B.	2013	Hemophilia A	Hà Nội
25.	16	08003795	Hoàng Văn Ch.	1973	Hemophilia A	Thanh Hóa
26.	16	08001317	Nguyễn Văn Q.	1988	Hemophilia A	Thanh Hóa

Stt	Phả hệ số	Mã số	Họ Tên	Năm sinh	Chẩn đoán	Địa chỉ
27.	16	15026201	Nguyễn Trường G.	2014	Hemophilia A	Thanh Hóa
28.	17	1211398	Đình Hoàng L.	1989	Hemophilia A	Nghệ An
29.	17	15015486	Đình Văn Tr.	1984	Hemophilia A	Nghệ An
30.	20	12016093	Nguyễn Quang Gia B.	2011	Hemophilia A	Hà Nội
31.	22	10001054	Nguyễn Biên A.	1997	Hemophilia A	Hung Yên
32.	22	13001280	Dương Văn L.	2012	Hemophilia A	Hung Yên
33.	23	09002042	Phạm Đăng D.	2005	Hemophilia A	Ninh Bình
34.	24	07006770	Thân Văn H.	1990	Hemophilia A	Bắc Giang
35.	24	15025613	Đình Công Đ.	2014	Hemophilia A	Bắc Giang
36.	26	07001919	Nguyễn Thái B.	2008	Hemophilia A	Hà Nội
37.	27	15008659	Lã Đức H.	2014	Hemophilia A	Hà Nội
38.	28	13022152	Phan Văn A.	2004	Hemophilia A	Bắc Giang
39.	29	1214973	Hoàng Minh D.	2009	Hemophilia A	Hà Nội
40.	29	13009666	Khuất Văn D.	1980	Hemophilia A	Hà Nội
41.	29	13018444	Phùng Văn Đ.	1968	Hemophilia A	Hà Nội
42.	29	15003722	Phùng Văn Đ.	1973	Hemophilia A	Hà Nội
43.	30	10005837	Nguyễn Duy P.	2006	Hemophilia A	Hà Nội
44.	31	11001371	Phùng Văn Linh Th.	2008	Hemophilia A	Hung Yên
45.	32	10006077	Phạm Trường G.	2007	Hemophilia A	Lào Cai
46.	32	10006152	Đình Hoàng H.	2001	Hemophilia A	Lào Cai
47.	32	10005984	Đỗ Chí Th.	1951	Hemophilia A	Lào Cai
48.	33	09003956	Nguyễn Huy Đ.	2001	Hemophilia A	Hải Dương
49.	33	09004345	Vương Văn P.	1994	Hemophilia A	Hải Dương
50.	34	07001007	Trần Quốc B.	2006	Hemophilia A	Hà Nam
51.	35	09000060	Ngô Văn Ph.	1942	Hemophilia A	Hà Nội
52.	35		Dương Trung H.	1987	Hemophilia A	Hà Nội
53.	35		Nguyễn Quang V.	1970	Hemophilia A	Hà Nội
54.	35		Nguyễn Ngọc T.	1992	Hemophilia A	Hà Nội

Stt	Phả hệ số	Mã số	Họ Tên	Năm sinh	Chẩn đoán	Địa chỉ
55.	35		Trần Anh T.	1965	Hemophilia A	Hà Nội
56.	35	08005593	Phạm Phú C.	2003	Hemophilia A	Hà Nội
57.	35	11018289	Phạm Tuấn M.	2007	Hemophilia A	Hà Nội
58.	35	12009328	Đào Quý D.	2009	Hemophilia A	Hà Nội
59.	36	11043088	Hoàng Anh T.	2010	Hemophilia A	Yên Bái
60.	37	09000101	Ngô Việt A.	2003	Hemophilia A	Hung Yên
61.	38	09004720	Vũ Trọng Ph.	1991	Hemophilia A	Thanh Hóa
62.	38	11002834	Vũ Trọng T.	1994	Hemophilia A	Thanh Hóa
63.	38	10003969	Nguyễn Hoàng A.	1993	Hemophilia A	Thanh Hóa
64.	39	13001767	Lê Văn L.	1999	Hemophilia A	Vĩnh Phúc
65.	39	13001766	Phùng Văn T.	2008	Hemophilia A	Vĩnh Phúc
66.	39	14019320	Nguyễn Hải D.	2001	Hemophilia A	Vĩnh Phúc
67.	39	1320381	Vũ Minh Đ.	2012	Hemophilia A	Vĩnh Phúc
68.	41	09000222	Nguyễn Khả Nhật Kh.	2008	Hemophilia A	Thái Bình
69.	42	10005168	Đình Văn A.	1996	Hemophilia A	Thái Bình
70.	43	11000134	Nguyễn Tùng L.	1989	Hemophilia A	Hung Yên
71.	44	11003725	Nguyễn Văn S.	1998	Hemophilia A	Hung Yên
72.	44		Nguyễn Đình Nh.	1985	Thiếu yếu tố VII bẩm sinh	Hung Yên
73.	44		Nguyễn Đình Th.	1983	Thiếu yếu tố VIII kết hợp yếu tố VII bẩm sinh	Hung Yên
74.	44	10000750	Đỗ Thanh Ph.	2008	Hemophilia A	Hung Yên
75.	45	09003633	Trần Tuấn A.	2002	Hemophilia A	Phú Thọ
76.	46	07000159	Bùi Gia H.	2008	Hemophilia A	Hà Nội
77.	46	14031288	Phạm Uy V.	2011	Hemophilia A	Hà Nội
78.	48	10003581	Dương Gia B.	2009	Hemophilia A	Hà Nội

Stt	Phả hệ số	Mã số	Họ Tên	Năm sinh	Chẩn đoán	Địa chỉ
79.	50	12007501	Lê Nhật A.	1992	Hemophilia A	Bắc Giang
80.	50	12007502	Nguyễn Trương Hoài N.	2004	Hemophilia A	Bắc Giang
81.	50	14011185	Nguyễn Trương Việt A.	2013	Hemophilia A	Bắc Giang
82.	53	12001402	Nguyễn Tuấn Tr.	2011	Hemophilia A	Hà Nội
83.	56	13013256	Hoàng Nhật M.	2013	Hemophilia A	Hà Nội
84.	57	07000596	Hoành Đình T.	1989	Hemophilia A	Hà Nội
85.	57	08004702	Nguyễn Bá Hoàng T.	2006	Hemophilia A	Hà Nội
86.	60	14039004	Lê Minh Q.	2012	Hemophilia A	Thái Bình
87.	60	15028766	Trần Bảo N.	2013	Hemophilia A	Thái Bình
88.	61	12000799	Nguyễn Tuấn M.	2010	Hemophilia A	Bắc Giang
89.	62	11000579	Nguyễn Đăng T	2000	Hemophilia A	Bắc Giang
90.	63	12012595	Lưu Anh K.	2011	Hemophilia A	Hà Nội
91.	64	11002800	Nguyễn Đình Th.	1999	Hemophilia A	Nghệ An
92.	64	14007560	Nguyễn Đình Th.	1989	Hemophilia A	Nghệ An
93.	64	15011076	Bùi Ngọc B.	2013	Hemophilia A	Nghệ An
94.	66	10003112	Phạm Quang H.	2001	Hemophilia A	Vĩnh Phúc
95.	69	13024525	Đặng Cao H.	2009	Hemophilia A	Hà Nội
96.	70	1401454	Nguyễn Hữu Tuấn M.	2011	Hemophilia A	Hưng Yên
97.	71	13022274	Đỗ Bá M.	1963	Hemophilia A	Hà Nội
98.	71	15026302	Trần Minh Đ.	2002	Hemophilia A	Hà Nội
99.	71	14011183	Lê Đức A.	2007	Hemophilia A	Hà Nội
100	72	10001485	Trương Việt H.	1994	Hemophilia A	Hà Tĩnh
101	72	13002059	Nguyễn Văn M.	2006	Hemophilia A	Hà Tĩnh
102	72		Nguyễn Việt Th.	2012	Hemophilia A	Hà Tĩnh
103	73		Nguyễn Văn Th.	1945	Hemophilia A	Thái Bình
104	73		Nguyễn Ngọc Kh.	1947	Hemophilia A	Thái Bình
105	73		Nguyễn Văn H.	1949	Hemophilia A	Thái Bình

Stt	Phả hệ số	Mã số	Họ Tên	Năm sinh	Chẩn đoán	Địa chỉ
106	73		Nguyễn Văn B.	1948	Hemophilia A	Thái Bình
107	73		Nguyễn Văn Ch.	1959	Hemophilia A	Thái Bình
108	73		Nguyễn Xuân H.	1994	Hemophilia A	Thái Bình
109	73	10006809	Nguyễn Văn L.	1994	Hemophilia A	Thái Bình
110	73	1100969	Nguyễn Quang H.	1959	Hemophilia A	Thái Bình
111	73		Lê Văn Ng.	1984	Hemophilia A	Thái Bình
112	73		Nguyễn Ngọc T.	1998	Hemophilia A	Thái Bình
113	73		Lê Văn H.	1986	Hemophilia A	Thái Bình
114	73		Lê Văn Tr.	1992	Hemophilia A	Thái Bình
115	73	16033065	Trần Bảo N.	2005	Hemophilia A	Thái Bình
116	73	11005646	Nguyễn Duy Tiến V.	2010	Hemophilia A	Thái Bình
117	75	16012893	Vũ Bá L.	2007	Hemophilia A	Hà Nội
118	77	15017143	Nguyễn Như Nhật M.	2015	Hemophilia B	Hung Yên
119	78	13021957	Lê Duy Tùng D.	2012	Hemophilia A	Hung Yên
120	80	07005972	Nguyễn Đức Kh.	2013	Hemophilia A	Hà Nội
121	85	08002987	Nguyễn Văn B.	2000	Hemophilia A	Hung Yên
122	86	07007357	Lê Duy D.	1987	Hemophilia A	Thanh Hóa
123	86	10000869	Nguyễn Quang Q.	2000	Hemophilia A	Thanh Hóa
124	86	11009993	Mai Hồng L.	2004	Hemophilia A	Thanh Hóa
125	88	11009993	Phạm Kế H.	1951	Hemophilia A	Ninh Bình
126	90		Nguyễn Gia Bảo H.	2005	Hemophilia A	Quảng Ninh
127	91		Nguyễn Văn L.	1983	Hemophilia A	Bắc Giang
128	91		Hoàng Văn D.	1992	Hemophilia A	Bắc Giang
129	91		Hoàng Văn L.	1986	Hemophilia A	Bắc Giang
130	91		Nguyễn Đình S.	1973	Hemophilia A	Bắc Giang
131	91		Nguyễn Văn T.	1928	Hemophilia A	Bắc Giang
132	91	13012549	Nguyễn Đình X.	1966	Hemophilia A	Bắc Giang
133	95	16026342	Nguyễn Đức B.	2012	Hemophilia A	Hung Yên

Stt	Phả hệ số	Mã số	Họ Tên	Năm sinh	Chẩn đoán	Địa chỉ
134	95	08005034	Nguyễn Tuấn Ph.	2014	Hemophilia A	Hung Yên
135	96	11002357	Đinh Ngọc N.	1985	Hemophilia A	Hà Nội
136	96	13019132	Nguyễn Việt L.	2004	Hemophilia A	Hà Nội
137	96	12010036	Hoàng Anh T.	2013	Hemophilia A	Hà Nội
138	97	13020821	Nguyễn Đức H.	2010	Hemophilia A	Hà Nội
139	98	13024216	Nguyễn Mạnh D.	2013	Hemophilia A	Bắc Giang
140	98	13024572	Nguyễn Văn C.	1972	Hemophilia A	Bắc Giang
141	99	10009336	Nguyễn Văn H.	1977	Hemophilia A	Hà Nội
142	99	10000048	Chu Thanh B.	2003	Hemophilia A	Hà Nội
143	100	12001216	Nguyễn Đức Th.	1952	Hemophilia A	Thái Nguyên
144	100	10001022	Nguyễn Hải C.	1970	Hemophilia A	Thái Nguyên
145	100	11006997	Phạm Hồng M.	1990	Hemophilia A	Thái Nguyên
146	100	11006998	Đỗ Hải Đ.	2005	Hemophilia A	Thái Nguyên
147	100	09000814	Nguyễn Thành Tr.	2005	Hemophilia A	Thái Nguyên

DANH SÁCH NGƯỜI MANG GEN ĐƯỢC PHÁT HIỆN
BẢNG PHÂN TÍCH PHẢ HỆ

Stt	Phả hệ số	Họ và tên	Tuổi	Địa chỉ
1.	1	Phạm Thị Th.	31	Nam Định
2.	1	Phạm Thị Th.	25	Nam Định
3.	1	Phạm Thị Y.	29	Nam Định
4.	2	Dương Thị L.	50	Hung Yên
5.	2	Trần Thị D.	68	Hung Yên
6.	2	Nguyễn Thị Đ.	70	Hung Yên
7.	3	Trần Thị Ng.	39	Phú Thọ
8.	3	Nguyễn Thị T.	49	Phú Thọ
9.	3	Trần Thanh Th.	19	Phú Thọ
10.	3	Nguyễn Thị B.	63	Phú Thọ
11.	3	Nguyễn Thị C.	68	Phú Thọ
12.	3	Nguyễn Thị D.	72	Phú Thọ
13.	4	Chu Thị H.	29	Hà Nội
14.	4	Chu Thị S.	26	Hà Nội
15.	5	Vũ Minh H.	39	Hà Nội
16.	5	Vũ Minh H.	40	Hà Nội
17.	5	Nguyễn Thị O.		Hà Nội
18.	5	Vũ Thị S.	76	Hà Nội
19.	6	Lục Thị H.	33	Lạng Sơn
20.	6	Trịnh Thị X.	56	Lạng Sơn
21.	7	Đỗ Thị H.	31	Phú Thọ
22.	7	Đỗ Thị H.	29	Phú Thọ

Stt	Phả hệ số	Họ và tên	Tuổi	Địa chỉ
23.	7	Lê Thị H.	59	Phú Thọ
24.	8	Lê Thị Nh.	31	Phú Thọ
25.	8	Lê Thị H.	40	Phú Thọ
26.	8	Lê Thị Ngọc A.	3	Phú Thọ
27.	8	Lê Thị Kim Ch.	8	Phú Thọ
28.	8	Đỗ Thị G.	67	Phú Thọ
29.	9	Trần Thị Q.	31	Thanh Hóa
30.	9	Nguyễn Thị S.	86	Thanh Hóa
31.	10	Trần Thị Kim Th.	34	Thái Nguyên
32.	10	Nguyễn Thị Ph.	61	Thái Nguyên
33.	11	Lê Thị Thúy H.	35	Hà Nội
34.	11	Nguyễn Thị M	69	Hà Nội
35.	11	Nguyễn Thị T.	57	Hà Nội
36.	11	Nguyễn Thị H.	73	Hà Nội
37.	11	Nguyễn Thị Th.	26	Hà Nội
38.	12	Nguyễn Thị H.	30	Bắc Ninh
39.	12	Nguyễn Thị C.	26	Bắc Ninh
40.	12	Nguyễn Thị L.	50	Bắc Ninh
41.	12	Nguyễn Thị B.		Bắc Ninh
42.	12	Nguyễn Thị X.	45	Bắc Ninh
43.	13	Mai Thị Th.	30	Nam Định
44.	13	Trần Thị Ch.	35	Nam Định
45.	13	Mai Thị Nh.	44	Nam Định
46.	13	Mai Thị Th.	50	Nam Định
47.	13	Mai Thị Ph.	58	Nam Định

Stt	Phả hệ số	Họ và tên	Tuổi	Địa chỉ
48.	13	Mai Thị Th.	31	Nam Định
49.	13	Mai Thị C.	78	Nam Định
50.	14	Tạ Thị M.	57	Hà Nội
51.	14	Nguyen Thi G.		Hà Nội
52.	14	Nguyen Thi N.		Hà Nội
53.	14	Tạ Thị D.	63	Hà Nội
54.	14	Tạ Thị Th.	56	Hà Nội
55.	15	Kiều Thị B.	53	Hà Nội
56.	15	Nguyễn Thị H.	27	Hà Nội
57.	15	Nguyen Thi T.		Hà Nội
58.	15	Kiều Thị H.	8	Hà Nội
59.	16	Kiều Thanh Ng.	0,5	Thanh Hóa
60.	16	Hoàng Thị Q.	47	Thanh Hóa
61.	16	Hoàng Thị L.	51	Thanh Hóa
62.	16	Nguyễn Thị S.	73	Thanh Hóa
63.	17	Đinh Thị B.	33	Nghệ An
64.	17	Nguyễn Thị Đ.	56	Nghệ An
65.	22	Ngô Thị N.	54	Hung Yên
66.	22	Ngô Thị V.	60	Hung Yên
67.	22	Ngô Thị H.	58	Hung Yên
68.	22	Nguyễn Thị Y.	41	Hung Yên
69.	22	Nguyễn Thị Y.	38	Hung Yên
70.	23	Vũ Thị Nh.	38	Ninh Bình
71.	23	Vũ Thị G.	32	Ninh Bình
72.	23	Nguyen Thị N.	67	Ninh Bình

Stt	Phả hệ số	Họ và tên	Tuổi	Địa chỉ
73.	24	Thân Thị H.	23	Bắc Giang
74.	24	Trần Thị N.	41	Bắc Giang
75.	24	Trần Thị L.	39	Bắc Giang
76.	25	Phan Thị T.	55	Hà Nam
77.	28	Ngô Thị L.	48	Bắc Giang
78.	29	Phùng Thị Minh H.	37	Hà Nội
79.	29	Phùng Thị D.	51	Hà Nội
80.	29	Khuất Thị Ng.	12	Hà Nội
81.	29	Phùng Thị Phương M.	8	Hà Nội
82.	29	Phùng Thị Phương H.	17	Hà Nội
83.	29	Phùng Thị H.	13	Hà Nội
84.	29	Nguyễn Thị L.	78	Hà Nội
85.	30	Đỗ Thị H.	30	Hà Nội
86.	30	Cấp Thị B.	68	Hà Nội
87.	31	Nguyễn Thị Th.	55	Hung Yên
88.	31	Trịnh Thị Tr.	7	Hung Yên
89.	31	Trịnh Thị H.	31	Hung Yên
90.	31	Nguyễn Thị Th.	45	Hung Yên
91.	32	Đỗ Thị Th.	37	Lào Cai
92.	32	Đỗ Thị Th.	31	Lào Cai
93.	32	Nguyễn Thị B.	42	Lào Cai
94.	32	Đỗ Thị Th.	63	Lào Cai
95.	32	Nguyễn Thị Nh.		Lào Cai
96.	33	Nguyễn Thị Th.		Hải Dương
97.	33	Nguyễn Thị L.	44	Hải Dương

Stt	Phả hệ số	Họ và tên	Tuổi	Địa chỉ
98.	33	Nguyễn Thị Th.		Hải Dương
99.	33	Nguyễn Thị K,	38	Hải Dương
100.	33	Nguyễn Thị G.		Hải Dương
101.	33	Nguyễn Thị H.		Hải Dương
102.	34	Nguyễn Thị Th.	44	Hà Nam
103.	34	Phạm Thị T.	23	Hà Nam
104.	34	Nguyễn Thị H.		Hà Nam
105.	35	Ngô Thúy H.	39	Hà Nội
106.	35	Nguyễn Thị Ng.	42	Hà Nội
107.	35	Ngô Thị Thúy H.	43	Hà Nội
108.	35	Ngô Thị Kim H.	41	Hà Nội
109.	35	Ngô Thị Ph.	38	Hà Nội
110.	35	Nguyễn Thị Vân A.	30	Hà Nội
111.	35	Nguyễn Phương G.	2	Hà Nội
112.	35	Nguyễn Thị Đ.	70	Hà Nội
113.	35	Nguyễn Thị T.	72	Hà Nội
114.	35	Nguyễn Thị B.	75	Hà Nội
115.	35	Nguyễn Thị Ch.	77	Hà Nội
116.	35	Nguyễn Thị Th.	74	Hà Nội
117.	35	Nguyễn Thị Nh.	78	Hà Nội
118.	35	Nguyễn Thị Ng.	67	Hà Nội
119.	35	Nguyễn Thị H.	64	Hà Nội
120.	35	Ngô Thị L.	36	Hà Nội
121.	36	Phạm Thị Hồng Th.	38	Yên Bái
122.	36	Phạm Thị V.	59	Yên Bái

Stt	Phả hệ số	Họ và tên	Tuổi	Địa chỉ
123.	37	Nguyễn Thị H.	35	Hung Yên
124.	37	Nguyễn Thị H.	33	Hung Yên
125.	38	Mạch Thị H.	44	Thanh Hóa
126.	38	Mạch Thị Ph.	42	Thanh Hóa
127.	38	Mạch Thị H.	46	Thanh Hóa
128.	38	Lê Thị T.	73	Thanh Hóa
129.	39	Lê Thị G.	38	Vĩnh Phúc
130.	39	Lê Thị Ng.	32	Vĩnh Phúc
131.	39	Lê Thị Ng.	35	Vĩnh Phúc
132.	39	Lê Thị T.	30	Vĩnh Phúc
133.	39	Lê Thị X.	28	Vĩnh Phúc
134.	40	Lê Thị L.	29	Vĩnh Phúc
135.	40	Nguyễn Thị Th.	47	Vĩnh Phúc
136.	41	Đào Thị H.	29	Thái Bình
137.	42	Đinh Thị H.	45	Thái Bình
138.	43	Bùi Thị V.	34	Hung Yên
139.	43	Bùi Thị Ng.	43	Hung Yên
140.	43	Nguyễn Thị M.	68	Hung Yên
141.	44	Nguyễn Thị V.	67	Hung Yên
142.	44	Nguyễn Thị H.	43	Hung Yên
143.	44	Nguyễn Thị Thu H.	36	Hung Yên
144.	44	Nguyễn Thị L.	28	Hung Yên
145.	44	Nguyễn Thị L.	63	Hung Yên
146.	44	Nguyễn Thị Th.	56	Hung Yên
147.	45	Lê Thị Thúy H.	31	Phú Thọ

Stt	Phả hệ số	Họ và tên	Tuổi	Địa chỉ
148.	45	Nguyễn Thị L.	50	Phú Thọ
149.	46	Lê Thúy H.	30	Hà Nội
150.	46	Lê Thị H.	28	Hà Nội
151.	46	Lê Thị Q.	21	Hà Nội
152.	46	Lê Thị Th.	35	Hà Nội
153.	46	Lê Thị D.	31	Hà Nội
154.	46	Nguyễn Thị S.	46	Hà Nội
155.	46	Lê Thị S.	67	Hà Nội
156.	48	Nguyễn Thị Ph.	29	Hà Nội
157.	48	Nguyễn Thị H.	30	Hà Nội
158.	48	Nguyễn Thị H.	25	Hà Nội
159.	49	Nguyễn Thị Ng.	39	Hung Yên
160.	49	Nguyễn Thị B.	41	Hung Yên
161.	49	Nguyễn Thị L.	46	Hung Yên
162.	49	Nguyễn Thị H.	43	Hung Yên
163.	49	Nguyễn Thị L.	41	Hung Yên
164.	49	Nguyễn Thị A.	35	Hung Yên
165.	49	Nguyễn Thanh L.	0,5	Hung Yên
166.	49	Nguyễn Thanh Th.	0	Hung Yên
167.	50	Trương Thị Bích Th.	41	Bắc Giang
168.	50	Trương Thị Ngọc L.	38	Bắc Giang
169.	50	Trương Thị Kim L.	36	Bắc Giang
170.	53	Hoàng Thị H.	25	Hà Nội
171.	53	Lê Thị L.	46	Hà Nội
172.	56	Nguyễn Thị Ph.	35	Hà Nội

Stt	Phả hệ số	Họ và tên	Tuổi	Địa chỉ
173.	56	Nguyễn Thị M.	31	Hà Nội
174.	56	Nguyễn Thị D.	71	Hà Nội
175.	57	Hoàng Thị Th.	26	Hà Nội
176.	57	Trịnh Thị H.	38	Hà Nội
177.	58	Bùi Thị T.	54	Hà Tĩnh
178.	59	Nguyễn Thị Q.	43	Hải Dương
179.	60	Nguyễn Thị Kh.	70	Thái Bình
180.	60	Phạm Thị S.	46	Thái Bình
181.	60	Phạm Thị Ng.	23	Thái Bình
182.	60	Nguyễn Thị H.	25	Thái Bình
183.	60	Nguyễn Thị X.	70	Thái Bình
184.	60	Nguyễn Thị Ng.	70	Thái Bình
185.	61	Tạ Thị Ch.	56	Bắc Giang
186.	61	Khổng Thị Th.	53	Bắc Giang
187.	61	Lưu Thị L.	25	Bắc Giang
188.	61	Thân Thị H.	82	Bắc Giang
189.	61	Thân Thị H.	77	Bắc Giang
190.	61	Thân Thị D.	73	Bắc Giang
191.	61	Thân Thị N.	60	Bắc Giang
192.	62	Trần Thị H.	39	Bắc Giang
193.	63	Trần Thanh H.	30	Hà Nội
194.	63	Hoàng Kim Th.	52	Hà Nội
195.	63	Hoàng Thị Kim O.	50	Hà Nội
196.	64	Lê Thị V.	49	Nghệ An
197.	64	Nguyễn Thị H.	21	Nghệ An

Stt	Phả hệ số	Họ và tên	Tuổi	Địa chỉ
198.	64	Lê Thị H.	47	Nghệ An
199.	64	Nguyễn Thị T.	71	Nghệ An
200.	65	Lê Thị Th.	44	Thanh Hóa
201.	65	Lê Thị L.	46	Thanh Hóa
202.	65	Nguyễn Thị L.	72	Thanh Hóa
203.	66	Đoàn Thị X.	41	Vĩnh Phúc
204.	66	Nguyễn Thị H.	46	Vĩnh Phúc
205.	68	Nguyễn Thị T.	40	Hà Nội
206.	68	Nguyễn Thị T.	65	Hà Nội
207.	69	Đỗ Thị H.	25	Hà Nội
208.	69	Nguyễn Thị T.	39	Hà Nội
209.	69	Nguyễn Thị L.	71	Hà Nội
210.	69	Nguyễn Thị S.	69	Hà Nội
211.	70	Hoàng Thị N.	28	Hung Yên
212.	70	Nguyễn Thị Nh.	66	Hung Yên
213.	71	Đỗ Thị H.	37	Hà Nội
214.	71	Đỗ Thị H.	36	Hà Nội
215.	71	Đỗ Thị H.	32	Hà Nội
216.	71	Đỗ Thị H.	29	Hà Nội
217.	71	Nguyễn Thị H.	69	Hà Nội
218.	71	Đỗ Thị Kh.	30	Hà Nội
219.	71	Đỗ Thị Th.	25	Hà Nội
220.	72	Võ Thị T.	34	Hà Tĩnh
221.	72	Võ Thị H.	29	Hà Tĩnh
222.	72	Nguyễn Thị H.	60	Hà Tĩnh

Stt	Phả hệ số	Họ và tên	Tuổi	Địa chỉ
223.	72	Nguyễn Thị L.	57	Hà Tĩnh
224.	72	Nguyễn Thị H.	56	Hà Tĩnh
225.	73	Nguyễn Thị V.	42	Thái Bình
226.	73	Nguyễn Thị Thu H.	25	Thái Bình
227.	73	Nguyễn Thị B.	25	Thái Bình
228.	73	Nguyễn Huyền Ng.	30	Thái Bình
229.	73	Nguyễn Thị T.	29	Thái Bình
230.	73	Nguyễn Thị T.	61	Thái Bình
231.	73	Nguyễn Thị M.	63	Thái Bình
232.	73	Nguyễn Thị L.	65	Thái Bình
233.	73	Nguyễn Thị M.	47	Thái Bình
234.	73	Nguyễn Thị C.	45	Thái Bình
235.	73	Nguyễn Thị X.	42	Thái Bình
236.	73	Nguyễn Thị H.	36	Thái Bình
237.	73	Nguyễn Thị H.	33	Thái Bình
238.	73	Nguyễn Thị H.	27	Thái Bình
239.	73	Nguyễn Thị L.	25	Thái Bình
240.	73	Nguyễn Thị H.	22	Thái Bình
241.	73	Nguyễn Thị B.	37	Thái Bình
242.	73	Nguyễn Thị V.	35	Thái Bình
243.	73	Nguyễn Thị Nh.	35	Thái Bình
244.	73	Nguyễn Thị B.	33	Thái Bình
245.	73	Lưu Ngọc A.	4	Thái Bình
246.	73	Nguyễn Thị L.	38	Thái Bình
247.	75	Nguyễn Thị Ph.	31	Hà Nội

Stt	Phả hệ số	Họ và tên	Tuổi	Địa chỉ
248.	75	Trần Thị M.	42	Hà Nội
249.	77	Nguyễn Thị H.	12	Hung Yên
250.	77	Nguyễn Thị D.	55	Hung Yên
251.	77	Vũ Thị L.	31	Hung Yên
252.	78	Nguyễn Thị H.	54	Hung Yên
253.	78	Nguyễn Thị H.	52	Hung Yên
254.	78	Nguyễn Thị Tố Nh.	29	Hung Yên
255.	78	Vũ Thị Th.	27	Hung Yên
256.	78	Nguyễn Thị Kh.	76	Hung Yên
257.	78	Nguyễn Thị H.	68	Hung Yên
258.	80	Phùng Thị C.	66	Hà Nội
259.	80	Phùng Thị Hong Gi.	28	Hà Nội
260.	80	Phùng Thị Tr.	3	Hà Nội
261.	82	Hà Thị P.	36	Nam Định
262.	82	Hà Thị Kim H.	25	Nam Định
263.	82	Hà Thị Thu H.	23	Nam Định
264.	82	Hà Thị D.	39	Nam Định
265.	83	Nguyễn Thị Th.	45	Vĩnh Phúc
266.	85	Phan Thị T.	27	Hung Yên
267.	85	Trần Thị T.	52	Hung Yên
268.	86	Lê Thị Gi.	28	Thanh Hóa
269.	86	Lê Thị X.	70	Thanh Hóa
270.	86	Lê Thị Đ.	26	Thanh Hóa
271.	86	Lê Thị Ng.	2	Thanh Hóa
272.	88	Phạm Thị H.	54	Ninh Bình

Stt	Phả hệ số	Họ và tên	Tuổi	Địa chỉ
273.	88	Phạm Thị D.	27	Ninh Bình
274.	88	Phạm Thị Tr.	25	Ninh Bình
275.	88	Nguyễn Thị H.	68	Ninh Bình
276.	89	Bui Thị Ng.	51	Vĩnh Phúc
277.	89	Bùi Thị H.	53	Vĩnh Phúc
278.	89	Bùi Thị Th.	47	Vĩnh Phúc
279.	89	Bùi Thị Ch.	68	Vĩnh Phúc
280.	89	Bùi Thị Ch.	66	Vĩnh Phúc
281.	89	Bùi Thị Ch.	64	Vĩnh Phúc
282.	90	Đỗ Thị S.	57	Quảng Ninh
283.	91	Nguyễn Thị Nh.	49	Bắc Giang
284.	91	Nguyễn Thị A.	8	Bắc Giang
285.	91	Nguyễn Thị Diễm Q.	9	Bắc Giang
286.	91	Nguyễn Thị T.	60	Bắc Giang
287.	91	Nguyễn Thị Ch.	63	Bắc Giang
288.	91	Nguyễn Thị D.	65	Bắc Giang
289.	91	Nguyễn Thị Th.	60	Bắc Giang
290.	91	Nguyễn Thị V.	62	Bắc Giang
291.	91	Nguyễn Thị T.	62	Bắc Giang
292.	91	Nguyễn Thị Ng.	11	Bắc Giang
293.	91	Nguyễn Thị U.	8	Bắc Giang
294.	91	Nguyễn Vũ Minh Ng.	4	Bắc Giang
295.	91	Nguyễn Vũ Ngọc D.	1	Bắc Giang
296.	95	Nguyễn Thị Kh.	27	Hung Yên
297.	95	Nguyễn Thị A.	28	Hung Yên

Stt	Phả hệ số	Họ và tên	Tuổi	Địa chỉ
298.	96	Đinh Thị L.	37	Hà Nội
299.	96	Trần Thị L.	32	Hà Nội
300.	96	Trần Thị Ph.	31	Hà Nội
301.	96	Đinh Bảo Tr.	2	Hà Nội
302.	96	Đinh Bảo A.	3	Hà Nội
303.	96	Trần Thị V.	61	Hà Nội
304.	96	Nguyễn Thị V.	67	Hà Nội
305.	97	Chu Thị L.	31	Hà Nội
306.	97	Chu Thị G.	28	Hà Nội
307.	97	Nguyễn Thị Đ.	70	Hà Nội
308.	98	Hoàng Thị Mỹ D.	35	Bắc Giang
309.	98	Nguyễn Thị H.	36	Bắc Giang
310.	98	Nguyễn Thị L.	66	Bắc Giang
311.	98	Nguyễn Thị X.	55	Bắc Giang
312.	98	Nguyễn Thị Q.	18	Bắc Giang
313.	98	Nguyễn Thị Tr.	15	Bắc Giang
314.	99	Nguyễn Thị H.	36	Hà Nội
315.	99	Bùi Thị Th.	35	Hà Nội
316.	99	Nguyễn Thị Th.	70	Hà Nội
317.	99	Nguyễn Thị Ng.	19	Hà Nội
318.	99	Nguyễn Thị L.	7	Hà Nội
319.	99	Đinh Thị H.	62	Hà Nội
320.	100	Nguyễn Thị Minh Th.	36	Thái Nguyên
321.	100	Nguyễn Thị Thanh Nh.	33	Thái Nguyên
322.	100	Nguyễn Thị Thanh Ng.	37	Thái Nguyên

Stt	Phả hệ số	Họ và tên	Tuổi	Địa chỉ
323.	100	Nguyễn Thị Th.	29	Thái Nguyên
324.	100	Nguyễn Thị Hương Q.	23	Thái Nguyên
325.	100	Nguyễn Ngọc A.	26	Thái Nguyên
326.	100	Nguyễn Thị Q.	31	Thái Nguyên
327.	100	Nguyễn Thị Ng.	21	Thái Nguyên
328.	100	Nguyễn Thị Ng.	51	Thái Nguyên
329.	100	Nguyễn Thị Th.	75	Thái Nguyên

**DANH SÁCH NGƯỜI MANG GEN
ĐƯỢC PHÁT HIỆN BẰNG PHÂN TÍCH DI TRUYỀN**

Stt	Phả hệ số	Họ tên	Tuổi	Địa chỉ
1	13	Trần Thị S.	38	Nam Định
2	13	Trần Thị H.	23	Nam Định
3	13	Trần Thị Hoài L.	10	Nam Định
4	13	Trần Thị Tâm Q.	8	Nam Định
5	13	Trần Thị Tr.	17	Nam Định
6	13	Đình Thị H.	14	Nam Định
7	13	Đình Thị Bích D.	9	Nam Định
8	18	Đặng Thị Th.	27	Bắc Ninh
9	18	Vũ Thị Th.	57	Bắc Ninh
10	24	Trần Thị H.	36	Bắc Giang
11	27	Nguyễn Thị H.	27	Hà Nội
12	27	Nguyễn Minh Ng.	8	Hà Nội
13	27	Nguyễn Thị H.	28	Hà Nội
14	34	Phạm Thị T.	33	Hà Nam
15	36	Phạm Khánh H.	27	Yên Bái
16	55	Hoàng Thị Th.	29	Bắc Giang
17	59	Nguyễn Thị Q.	43	Hải Dương
18	59	Bùi Thị Thúy H.	20	Hải Dương
19	79	Ngụy Thị H.	25	Bắc Ninh
20	80	Phùng Thị L.	32	Hà Nội
21	90	Trần Hải Y.	30	Quảng Ninh
22	93	Nguyễn Thị Kim D.	30	Hà Nội

23	66	Nguyễn Thị Thu H.	28	Vĩnh Phúc
24	21	Nguyễn Thị Thu H.	33	Hà Nội
25	47	Tạ Thị L.	10	Tuyên Quang
26	47	Nguyễn Thị Ng.	43	Tuyên Quang
27	54	Đặng Thị Th.	27	Bắc Giang
28	58	Nguyễn Thị H.	31	Hà Tĩnh
29	98	Hoàng Thị H.	33	Bắc Giang
30	2	Trần Thị H.	25	Hung Yên
31	10	Trần Thị H.	28	Thái Nguyên
32	10	Trần Thị Th.	35	Thái Nguyên
33	12	Nguyễn Thị Nh.	28	Bắc Ninh
34	14	Nguyễn Thị Tuyết Th.	33	Hà Nội
35	16	Phạm Thị V.	22	Thanh Hóa
36	20	Nguyễn Thị Ng.	20	Hà Nội
37	31	Trần Thị H.	23	Hung Yên
38	90	Trần Hải Y.	30	Quảng Ninh

DANH SÁCH NHÓM CHÚNG

Stt	Họ và tên	Tuổi	Địa chỉ
1.	Đặng Thị Như Q.	26	Hà Nội
2.	Lã Thị Hoài P.	23	Hà Nội
3.	Đào Thị T.	19	Hà Nội
4.	Nguyễn Thị Phương Th.	40	Hà Nội
5.	Lê Thị Minh Ng.	20	Hà Nội
6.	Nguyễn Thị H.	25	Hà Nội
7.	Nguyễn Thị Tr.	27	Hà Nội
8.	Nguyễn Thu H.	22	Hà Nội
9.	Đoàn Hồng H.	24	Hà Nội
10.	Nguyễn Thị X.	29	Hà Nội
11.	Chu Thị G.	30	Hà Nội
12.	Nguyễn Thanh V.	26	Hà Nội
13.	Nguyễn Thị Hằng Ng.	23	Hà Nội
14.	Đinh Thị Hoa S.	30	Hà Nội
15.	Nung Thị L.	29	Hà Nội
16.	Nguyễn Diệu L.	33	Hà Nội
17.	Phạm Thị Thanh Tr.	22	Hà Nội
18.	Dương Thị Thu H.	20	Hà Nội
19.	Bùi Thị Tú A.	21	Hà Nội
20.	Đinh Thị Tr.	31	Hà Nội
21.	Lê Ngọc A.	20	Hà Nội
22.	Trần Thị Minh Q.	22	Hà Nội
23.	Phan Thị H.	21	Hà Nội
24.	Vũ Thị H.	40	Hà Nội
25.	Võ Thị Thanh B.	34	Hà Nội
26.	Hoàng Thị Th.	26	Hà Nội

27.	Đỗ Ngọc Hà.	28	Hà Nội
28.	Thái Thị Thu Tr.	44	Hà Nội
29.	Nguyễn Thị Thu Tr.	31	Hà Nội
30.	Tạ Thị Bích H.	44	Hà Nội
31.	Lương Thị S.	36	Hà Nội
32.	Dương Thị D.	38	Hà Nội
33.	Phạm Thị L.	42	Hà Nội
34.	Nguyễn Thị Bích L.	26	Hà Nội
35.	Phạm Minh Th.	27	Hà Nội
36.	Phạm Thị Hồng L.	28	Hà Nội
37.	Trần Thị Nh.	27	Hà Nội
38.	Nguyễn Thị Thanh Th.	40	Hà Nội
39.	Nguyễn Thị Thu Ph.	27	Hà Nội
40.	Nguyễn Lan H.	30	Hà Nội
41.	Nguyễn Thị Thu H.	37	Hà Nội
42.	Nguyễn Thị Th.	37	Hà Nội
43.	Nguyễn Thị Thu H.	30	Hà Nội
44.	Trần Thị Thanh H.	34	Hà Nội
45.	Dương Thị Minh Th.	27	Hà Nội
46.	Trần Thuý H.	27	Hà Nội
47.	Chu Thị H.	32	Hà Nội
48.	Phan Thị M.	35	Hà Nội
49.	Nguyễn Kim H.	34	Hà Nội
50.	Lê Thị Thanh H.	30	Hà Nội
51.	Nguyễn Thị V.	35	Hà Nội
52.	Nguyễn Bảo Ng.	26	Hà Nội
53.	Nguyễn Huỳnh Mỹ L.	20	Hà Nội
54.	Ngô Thị Th.	19	Hà Nội

55.	Hoàng Thị Thuỳ A.	23	Hà Nội
56.	Nguyễn Thị Hải Y.	21	Hà Nội
57.	Hoàng Thị Lan H.	45	Hà Nội
58.	Nguyễn Hồng Ng.	24	Hà Nội
59.	Đào Thị Th.	37	Hà Nội
60.	Trịnh Thị L.	21	Hà Nội
61.	Nguyễn Thị H.	50	Hà Nội
62.	Lê Thị Thanh M.	42	Hà Nội
63.	Phạm Thị Bảo L.	13	Hà Nội
64.	Mai Thị Th.	27	Hà Nội
65.	Nguyễn Bích H.	25	Hà Nội
66.	Phạm Thị Thanh H.	14	Hà Nội
67.	Thân Thị L.	22	Hà Nội
68.	Phạm Lan Ph.	24	Hà Nội
69.	Lê Thị H.	14	Hà Nội
70.	Dương Thị Q.	24	Hà Nội

Cán bộ hướng dẫn

Viện Huyết học - Truyền máu TW

Phòng Kế hoạch tổng hợp

GS.TS. Nguyễn Anh Trí



TRƯỞNG PHÒNG KẾ HOẠCH TỔNG HỢP
ThS.BS. Nguyễn Hữu Chiến

