

## CHẨN ĐOÁN DI TRUYỀN TRƯỚC LÀM TỔ BỆNH ALPHA THALASSEMIA BẰNG PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH LIÊN KẾT GEN

Nguyễn Lệ Thủy<sup>1</sup>, Nguyễn Huy Hoàng<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Thu<sup>1</sup>,  
Đặng Tiến Trường<sup>2</sup>, Lương Thị Lan Anh<sup>3</sup>

### TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Xác định đột biến -SEA trên gen HBA gây bệnh Alpha thalassemia của phôi trước làm tổ ở hai gia đình bố mẹ mang dị hợp tử -SEA trên gen HBA bằng phương pháp phân tích liên kết gen. **Đối tượng nghiên cứu:** Mẫu máu ngoại vi và mẫu phôi nang của hai gia đình có bố mẹ mang dị hợp tử-SEA trên gen HBA. **Phương pháp:** Ứng dụng các kỹ thuật xét nghiệm di truyền trước làm tổ xác định bệnh đơn gen (PGT-M), kỹ thuật tách chiết DNA, kỹ thuật khuếch đại toàn bộ hệ gen của phôi bào, điện di mao quản, kỹ thuật phân tích liên kết gen sử dụng các STR thực hiện trên mẫu máu ngoại vi và mẫu sinh thiết phôi nang, chẩn đoán sau sinh bằng phương pháp lai ngược dòng. **Kết quả:** Xác định được sơ đồ liên kết gen HBA của 2 gia đình và phân tích trên 13 mẫu phôi bào để xác định đột biến-SEA trên gen HBA gây bệnh Alpha thalassemia. Mỗi gia đình đã chuyển 1 phôi không mang đột biến-SEA trên gen HBA gây bệnh Alpha thalassemia. sinh em bé thành công, kết quả chẩn đoán sau sinh phù hợp với kết quả xét nghiệm trước làm tổ. **Kết luận:** Đã xác định được đột biến -SEA trên gen HBA bằng phương pháp

phân tích liên kết gen trong chẩn đoán di truyền trước làm tổ bệnh Alpha thalassemia.

**Từ khóa:** PGT-M, alpha thalassemia.

### SUMMARY

#### PREIMPLANTATION GENETIC TESTING FOR ALPHA THALASSEMIA USING GENETIC LINKAGE ANALYSIS

**Objective:** Pre-implantation genetic testing for monogenic disorders (PGT-M) using genetic linkage analysis to identify the -SEA mutation on the HBA gene causing Alpha thalassemia for embryos of two couples both wife and husband carried this mutation. **Subjects:** Peripheral blood samples from two couples and their blastocyst biopsy samples. **Method:** Application of preimplantation genetic testing techniques for mono gene disease (PGT-M), DNA extraction techniques, whole genome amplification techniques of blastomeres, capillary electrophoresis, analytical techniques genetic linkage using STRs performed on peripheral blood samples and blastocyst biopsies, postpartum diagnosis by upstream hybridization. **Results:** We identified the -SEA mutation on the HBA gene and the gene association diagram of 2 families and 13 embryos. Each couple transferred 1 embryo that did not carry the-SEA mutation and successfully delivered 2 healthy babies. The genetic analysis after birth has confirmed the result of prior PGT-M. **Conclusion:** The -SEA mutation on the HBA gene has been identified by

<sup>1</sup>Bệnh viện Đa khoa Tâm Anh

<sup>2</sup>Học viện Quân y

<sup>3</sup>Trường Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Lệ Thủy

Email: thuyln@tamanhhospital.vn

Ngày nhận bài: 07/05/2023

Ngày phản biện khoa học: 26/05/2023

Ngày duyệt bài: 13/06/2023

PGT-M using haplotype by genetic linkage analysis.

**Keywords:** PGT-M, alpha thalassemia.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thalassemia là một trong những bệnh di truyền đơn gen phổ biến nhất.<sup>1</sup> Bệnh có hai thể chính là Alpha Thalassemia ( $\alpha$ -thalassemia) liên quan đến biến đổi gen  $\alpha$ -globin (HBA) và Beta Thalassemia ( $\beta$ -thalassemia) do biến đổi gen  $\beta$ -globin (HBB), các biến đổi này dẫn tới thiếu hụt tương ứng chuỗi  $\alpha$ -globin và  $\beta$ -globin của hồng cầu, từ đó làm hồng cầu dễ vỡ gây các triệu chứng của thiếu máu ở nhiều mức độ khác nhau. Biểu hiện bệnh  $\alpha$ -thalassemia rất đa dạng phụ thuộc vào kiểu gen có thể từ người lành mang gen, thể nhẹ, thể trung bình hoặc nặng nhất gây phù thai, thai chết lưu, chết ngay sau sinh gây ảnh hưởng lớn đến sức khỏe và tâm lý của các cặp vợ chồng. Vì vậy, dự phòng sinh con bị bệnh bằng tư vấn trước hôn nhân, chẩn đoán trước sinh và chẩn đoán di truyền trước làm tổ bệnh đơn gen (PGT for monogenic/single gene disorders/PGT-M) là cần thiết. PGT-M có nhiều ưu điểm nhưng cũng có nhiều nhiều thách thức như chẩn đoán trên mẫu tế bào phôi với lượng DNA rất thấp, hiện tượng mất alen (Allel Drop Out -ADO), hiện tượng ngoại nhiễm... gây chẩn đoán sai. Vì vậy, các phương pháp chẩn đoán trực tiếp gen đột biến gây bệnh như GAP-PCR, lai phân tử (Minisequencing, StripAssay...) cần kết hợp với phân tích liên kết gen thông qua các chỉ thị di truyền như đa hình đơn nucleotide (Single Nucleotide Polymorphism - SNP) hoặc các trình tự lặp ngắn (Short Tandem Repeat-STR). Phương pháp phân tích liên kết gen không chỉ giúp theo dõi được sự di truyền của các alen đột biến mà còn có khả

năng kiểm soát hiện tượng ADO và ngoại nhiễm, qua đó tránh chẩn đoán sai. Vì vậy, Hội Sản Khoa và Phôi học Châu (ESHRE) khuyến cáo bắt buộc dùng phương pháp phân tích liên kết gen trong PGT-M.<sup>2</sup> Báo cáo này trình bày về việc áp dụng kỹ thuật phân tích STR liên kết trong PGT-M ở hai gia đình mang đột biến -SEA của gen HBA, với mục tiêu: **Xác định đột biến -SEA trên gen HBA gây bệnh Alpha thalassemia của phôi trước làm tổ ở hai gia đình bố mẹ mang dị hợp tử -SEA trên gen HBA bằng phương pháp phân tích liên kết gen.**

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Hai cặp vợ chồng đều mang kiểu gen dị hợp mất đoạn SEA ( $--^{SEA}/\alpha\alpha$ ), đủ điều kiện thực hiện thụ tinh trong ống nghiệm (IVF) tại Bệnh viện đa khoa Tâm Anh. Mẫu được phân tích gồm mẫu máu của hai vợ chồng, mẫu máu của thành viên thể hệ thứ nhất và mẫu tế bào sinh thiết phôi nang. Các mẫu máu của thành viên trong gia đình được thu thập và chống đông bằng EDTA. Mẫu tế bào sinh thiết phôi nang được bảo quản trong 2,5 $\mu$ L PBS 1x.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Thiết kế và phân tích các chỉ thị cho xét nghiệm di truyền trước làm tổ (PGT-M)

Kỹ thuật PGT-M được thực hiện theo hai giai đoạn:

Giai đoạn thứ nhất: phân tích mẫu máu của các thành viên trong gia đình nhằm xác định kiểu gen của các STR liên kết với gen HBA. Các marker được thiết kế bằng các công cụ tin sinh học trên ngân hàng gen, trong số 8 marker được sử dụng có 2 marker phía trước, 2 marker nằm trong đoạn đột biến mất đoạn, 4 marker phía sau. Tất cả các STR

đều là các STR có độ dài trình tự lặp đoạn từ 2 - 4bp. STR HBA950 nằm xa gen HBA nhất với khoảng cách khoảng 0,65 Mb; các STR khác đều có khoảng cách gần gen HBA hơn, trong đó STR PTEL03 nằm gần gen HBA nhất với khoảng cách dưới 0,05 Mb. Các alen của các STR liên kết với alen đột biến, gọi là haplotype nguy cơ; các alen của STR liên kết với alen không đột biến (kiểu đại) được gọi là haplotype không nguy cơ.

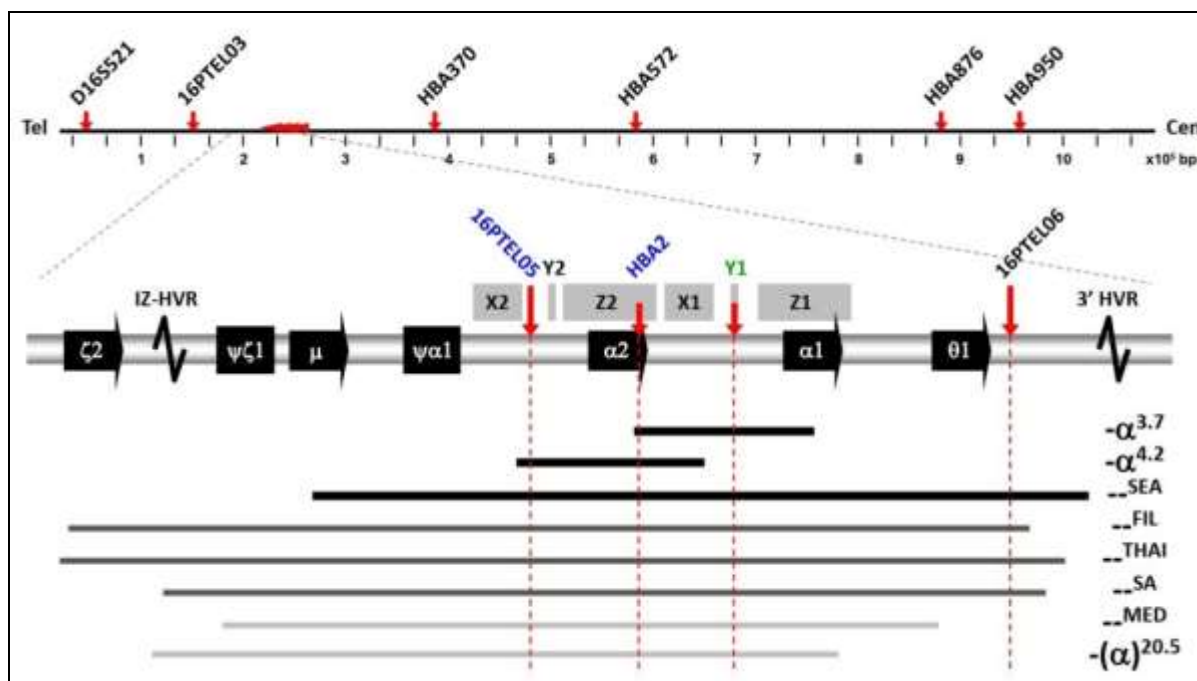
Giai đoạn thứ hai: Phân tích kiểu gen của các STR trên mẫu phôi. Xác định haplotype nguy cơ và haplotype không nguy cơ trên các mẫu phôi, xác định được tình trạng tổn thương của phôi.

**2.2.2. Các kỹ thuật được sử dụng:**

- Tách chiết DNA: DNA tổng số được tách từ 200  $\mu$ L mẫu máu ngoại vi bằng bộ QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

- Khuếch đại hệ gen (WGA): Mẫu tế bào phôi được khuếch đại bằng bộ kit REPLI-g Single Cell Kit (QIAGEN) theo khuyến cáo của nhà sản xuất. Sản phẩm WGA được bảo quản ở -20°C cho đến khi sử dụng.

- Xác định kiểu gen của các STR: Phản ứng multiplex PCR khuếch đại 8 chỉ thị STR. Thể tích 50 $\mu$ L có thành phần gồm: QIAGEN Multiplex PCR Master Mix (QIAGEN), 1X; Q-Solution (QIAGEN), 1X; 50-100 ng DNA tổng số hoặc 1 $\mu$ L sản phẩm WGA của mẫu phôi; 8 cặp mồi STR (Vị trí các chỉ thị trong Hình 1). Chu trình nhiệt của phản ứng PCR trên máy luân nhiệt ProFlex (ABI, Thermo Fisher) như sau: 95°C 15 phút, 30 chu kỳ (98°C 45 giây, 60°C 90 giây, 72°C 66 giây), 60°C 30 phút, 11°C.<sup>3</sup> Sản phẩm PCR được biến tính và điện di mao quản trên hệ thống ABI 3500 (ABI, Thermo Fisher). Kiểu gen của các chỉ thị được phân tích bằng phần mềm Genmapper 5.0.



Hình 1. Vị trí các chỉ thị STR trên NST 16

Các phôi không bị bệnh được chuyển vào tử cung người mẹ, mang thai và sinh con. Các cặp vợ chồng được tư vấn chẩn đoán trước sinh và sau sinh.

Sau sinh, mẫu máu được thu thập và chẩn đoán bằng kỹ thuật lai ngược dòng.

**2.3. Địa điểm nghiên cứu**

- Các cặp vợ chồng thực hiện kỹ thuật IVF tại Bệnh viện đa khoa Tâm Anh.

- Kỹ thuật PGT-M được thực hiện tại phòng phân tích DNA, Bộ môn Giải phẫu, Học viện Quân y.

**2.4. Đạo đức nghiên cứu**

Đề tài đã được thông qua hội đồng cơ sở của Bệnh viện đa khoa Tâm Anh theo quyết định số 418/QĐ-BVTA ngày 26/12/2022.

**III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU**

**3.1. Gia đình 1**

Người vợ 35 tuổi, có các xét nghiệm AMH 4,85 ng/mL, FSH 5,89 mIU/mL, LH 5.43 mIU/mL, siêu âm ngày 2 chu kỳ kinh số nang thứ cấp là 15, các xét nghiệm miễn dịch âm tính, sàng lọc ung thư cổ tử cung bình thường, kết quả chụp tử cung - vòi trứng: hai vòi tử cung thông, buồng tử cung bình thường.

Người chồng 37 tuổi, xét nghiệm miễn dịch âm tính, tinh dịch đồ: Thể tích 2 mL, tổng số 98 triệu, di động tiến tới 40%.

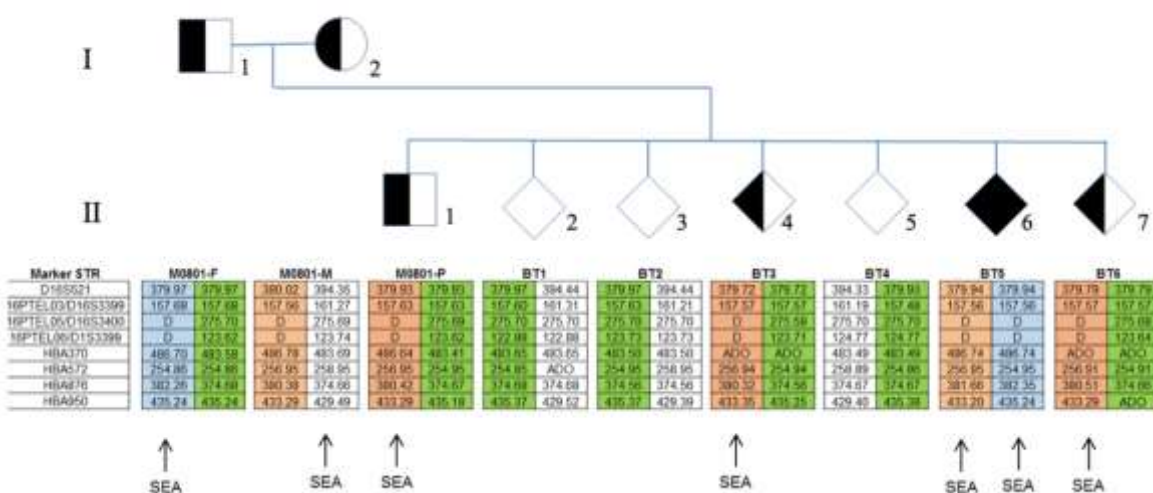
Hai vợ chồng được làm xét nghiệm xác định đột biến gen HBA bằng phương pháp lai ngược dòng, kết quả: dị hợp tử đột biến -- SEA.

Các xét nghiệm về sức khỏe sinh sản của cặp vợ chồng đều đủ điều kiện tham gia quy trình thụ tinh trong ống nghiệm. Sau khi thực hiện làm thụ tinh ống nghiệm và nuôi phôi ngày 5, gia đình 1 có 12 phôi ngày 5. Tiến hành sinh thiết 6 phôi chất lượng tốt làm xét nghiệm PGT-M.

\* Kết quả phân tích liên kết gen (Hình 2)

Giai đoạn 1: Phân tích trên mẫu máu của bố mẹ và con trai (I.1, I.2 và II.1). Haplotype của các STR trong nghiên cứu đều đủ thông tin, phân biệt được giữa các haloptype và bộ alen được xếp vào các ô màu xanh lá cây và màu trắng là haplotype không nguy cơ của lần lượt bố và mẹ. Haplotype xếp vào các ô màu xanh da trời và màu cam là haplotype nguy cơ lần lượt của bố và mẹ.

Giai đoạn 2: Phân tích trên mẫu 6 phôi bào (II.1, II.2, II.3, II.4, II.5, II.6).



Hình 2. Kết quả phân tích STR trên mẫu máu bố mẹ và con trai (gia đình 1)

Halotype nguy cơ: màu xanh da trời và màu cam. Halotype không nguy cơ: màu xanh lá cây và màu trắng. D: Mất đoạn DNA; ADO (Allele dropout): Mất alen, không xác định được thông tin.

Nhận xét: Người bố, người mẹ và con trai (I.1, I.2 và II.1) đều mang halotype nguy cơ, mất đoạn gen HBA (D thuộc các ô màu xanh da trời và màu cam), đó là đột biến –SEA, kiểu gen dị hợp tử, trùng khớp với kết quả phân tích kiểu gen HBA của gia đình đã được xét nghiệm di truyền bằng kỹ thuật lai phân tử. Các mẫu phôi bào 1, 2, 4 hay BT1, BT2, BT4 (II.2, II.3, II.5) nhận 2 halotype không nguy cơ của bố mẹ nên những phôi này có kiểu gen bình thường. Phôi thứ 3 hay BT3 (II.4) và phôi thứ 6 hay BT6 (II.7) nhận 1 halotype không nguy cơ của bố và halotype nguy cơ của mẹ. Phôi số 5 hay BT5 (II.6) mang cả 2 halotype nguy cơ của cả bố và mẹ nên đây là phôi bị bệnh. Hiện tượng ADO xảy ra ở các STR HBA572 (phôi số 1), HBA370 (phôi số 3 và số 6).

Gia đình được tư vấn kết quả PGT-M, sau đó đã được chuẩn bị niêm mạc và chuyển phôi số 1 hay phôi BT1. Kết quả sau chuyển phôi, gia đình đã sinh 1 bé khỏe mạnh, thực hiện xét nghiệm sau sinh, em bé không mang

gen đột biến –SEA gây bệnh alpha thalassemia.

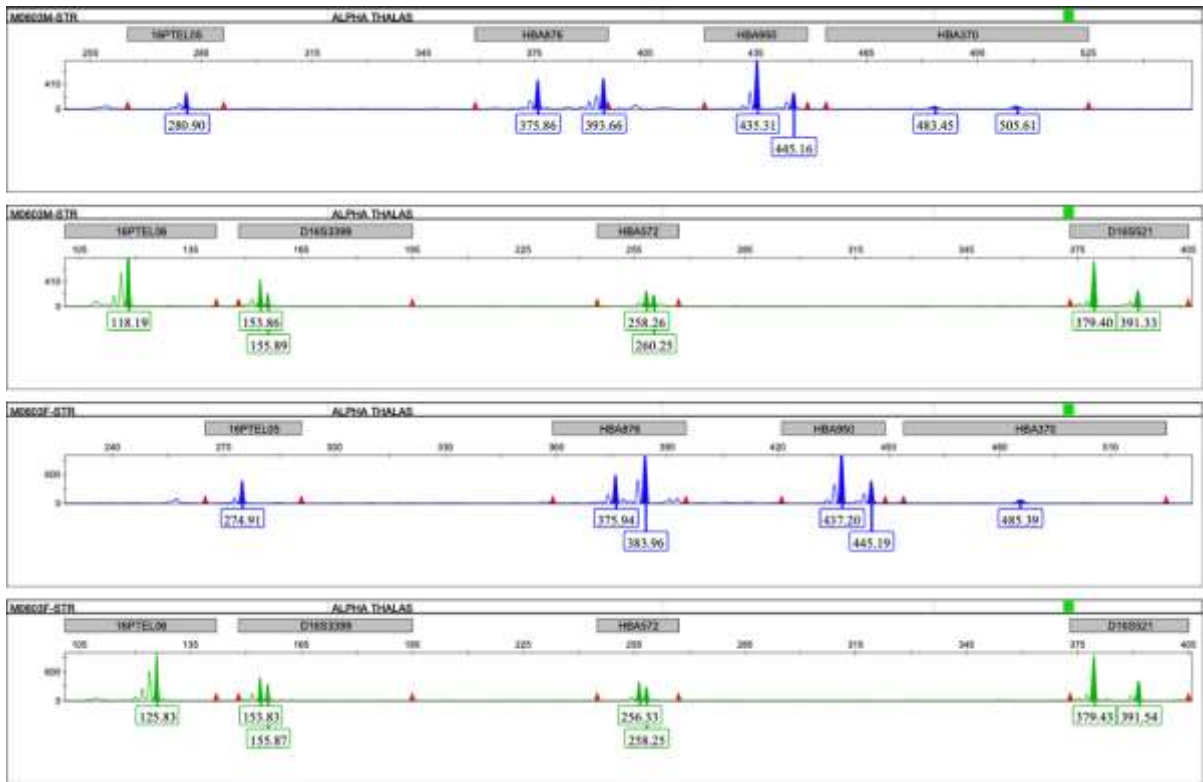
### 3.2. Gia đình 2

Đối với gia đình 2, người vợ 28 tuổi, có các xét nghiệm AMH 2,27 ng/mL, FSH 7,82 mIU/mL, LH 4,4 mIU/mL, siêu âm ngày 2 chu kỳ kinh số nang thứ cấp là 12, các xét nghiệm miễn dịch âm tính, sàng lọc ung thư cổ tử cung bình thường, kết quả chụp tử cung - vòi trứng: hai vòi tử cung thông, buồng tử cung bình thường.

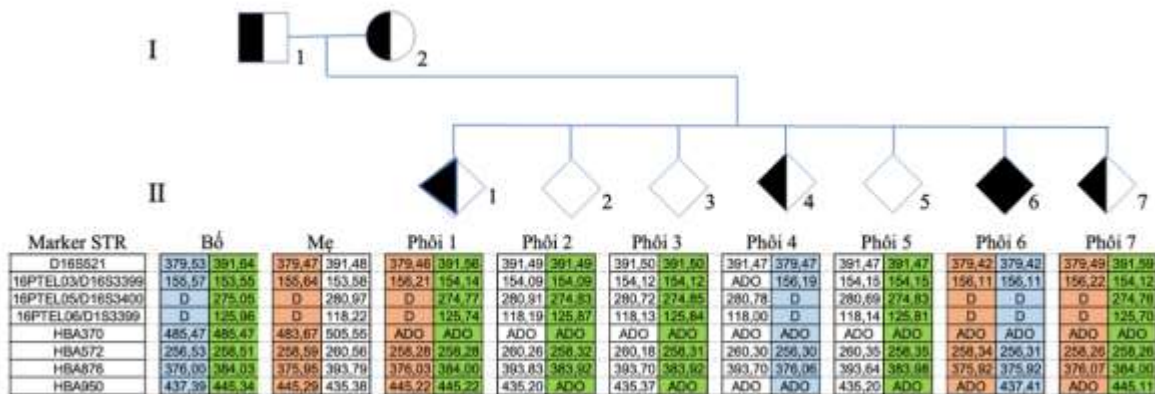
Người chồng 28 tuổi, xét nghiệm miễn dịch âm tính, tinh dịch đồ: Thể tích 2.5ml, tổng số 110 triệu, di động tiến tới 35%.

Khi kiểm tra xét nghiệm điện di cho người vợ (HBA1 92,7%, HbA2 5,6%, HbF 1,7%), nghi ngờ người vợ mang cả đột biến gen alpha và gen beta. Tuy nhiên người chồng chỉ mang gen alpha nên chúng tôi tiến hành làm PGT-M cho bệnh alpha Thalassemia.

Các xét nghiệm về sức khỏe sinh sản của cặp vợ chồng đều đủ điều kiện tham gia quy trình thụ tinh trong ống nghiệm. Gia đình 2 cũng tiến hành làm thụ tinh trong ống nghiệm và thu được 7 phôi nang chất lượng tốt được sinh thiết và gửi mẫu xét nghiệm PGT-M với kết quả phân tích được thể hiện ở hình 4 và hình 5.



**Hình 3. Kết quả điện di mao quản trên mẫu máu của bố mẹ gia đình 2**  
 Các STR được phân biệt bằng kích thước và màu sắc



**Hình 4: Kết quả phân tích STR trên bố mẹ và mẫu phôi (Gia đình 2)**

Halotype nguy cơ: màu xanh da trời và màu cam. Halotype không nguy cơ: màu xanh lá cây và màu trắng. D: Mất đoạn DNA, ADO (Allele dropout): Mất alen, không xác định được thông tin.

Do gia đình 2 không có thành viên thế hệ thứ nhất nên chúng tôi dựa vào kết quả điện

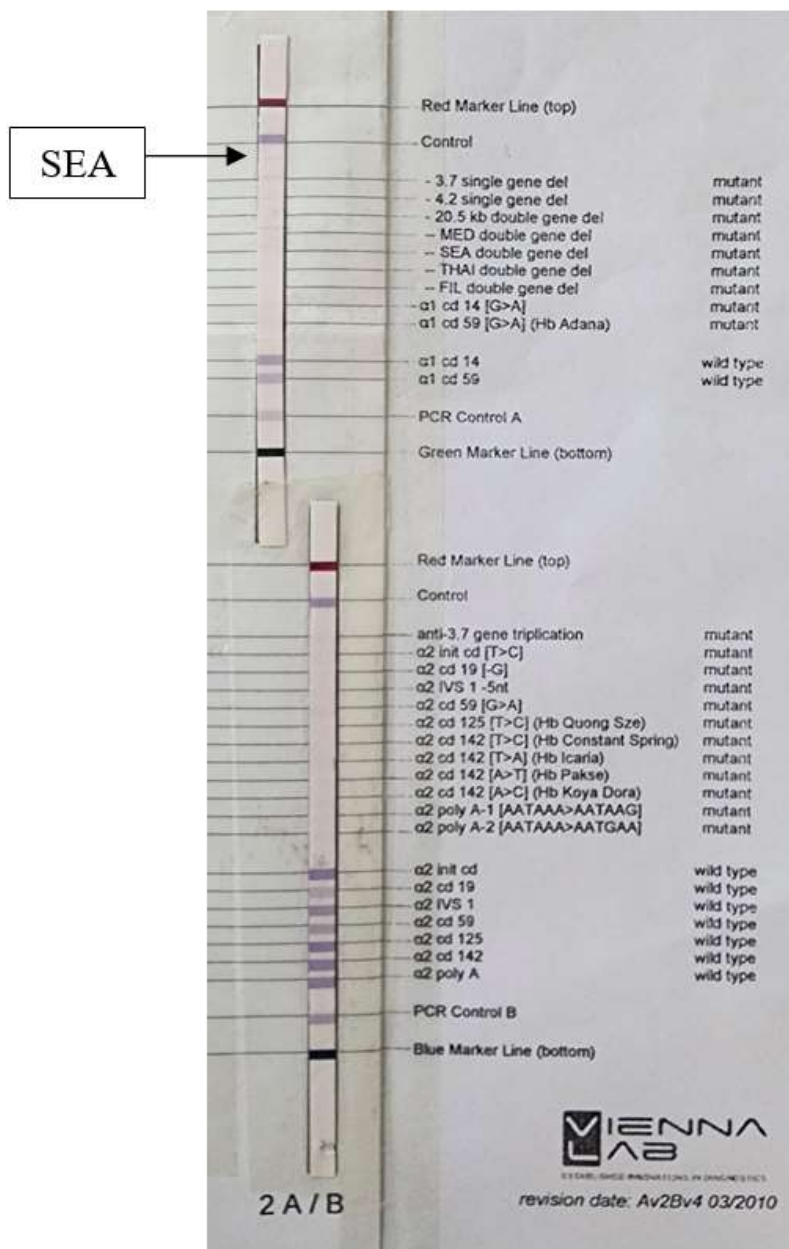
di trên mẫu phôi bào để phân tích và kết luận.

Cũng tương tự gia đình 1, 2 halotype màu cam và màu xanh nước biển là 2 halotype mang đột biến mất đoạn gen SEA của bố và mẹ là halotype nguy cơ, halotype màu trắng và xanh lá là halotype không nguy cơ. Từ đó,



khi phân tích kết quả trên phôi, chúng tôi kết luận phôi số 6 bị bệnh do nhận cả 2 halotype nguy cơ, phôi số 1, 4, 7 nhận 1 halotype nguy cơ và 1 halotype không nguy cơ và phôi số 2, 3, 5 không mang đột biến. Hiện tượng ADO xảy ra ở marker HBA950 và HBA370.

Sau khi được tư vấn kết quả PGT-M, gia đình đã lựa chọn chuyển phôi số 5 và thành công ngay lần đầu tiên, kết quả xét nghiệm sau sinh của em bé không mang gen bệnh alpha thalassemia.



**Hình 5. Kết quả xét nghiệm đột biến gen HBA trên mẫu máu ngoại vi sau sinh (Gia đình 2)**

#### IV. BÀN LUẬN

Đột biến gây bệnh  $\alpha$ -thalassemia bao gồm đột biến mất đoạn và đột biến điểm. Đột biến mất đoạn có 2 dạng là đột biến đoạn lớn làm mất cả 2 gen  $\alpha$  và đột biến đoạn nhỏ làm mất 1 gen  $\alpha$ . Hiện nay đã phát hiện được trên 300 đột biến, trong đó đột biến mất đoạn là chủ yếu (khoảng 90%). Trong nghiên cứu của Đỗ Thị Quỳnh Mai và cộng sự (2021) trên 27 bệnh nhân mắc bệnh alpha thalassemia; phát hiện 56,1% trường hợp mất đoạn -SEA; 9,8% trường hợp mất đoạn -3.7; 34% trường hợp có đột biến điểm.<sup>4</sup>

Trong cả 2 gia đình, bố mẹ đều mang đột biến dị hợp tử mất đoạn gen SEA nên nếu con không có chuỗi  $\alpha$ -globin nào được tổng hợp do bị mất chức năng cả 4 gen tổng hợp chuỗi  $\alpha$  - globin, trẻ sơ sinh bị Hội chứng Hb Bart's.<sup>5</sup> Những trẻ này có lượng Hb Bart's ( $\gamma_4$ ), HbH ( $\beta_4$ ) và Hb Portland ( $\zeta_2\gamma_2$ ) thay đổi. Các đặc điểm lâm sàng là thiếu máu trong tử cung, gan lách to rõ rệt, dị dạng tim mạch với dấu hiệu suy tim, dị dạng khung xương, chậm phát triển não và phù thai. Các triệu chứng này dẫn đến nguy cơ thai chết trong tử cung (thường từ 23 đến 38 tuần tuổi thai).<sup>6</sup> Các biến chứng nặng nề cho thai nhi, cùng với các tai biến sản khoa nghiêm trọng là cơ sở để tư vấn về đình chỉ thai, điều này đã xảy ra với gia đình số 2. Phương pháp sàng lọc di truyền trước làm tổ giúp cho cặp vợ chồng chọn được phôi khỏe mạnh tránh được bệnh lý tương tự như người con trước đó, đây là một giải pháp giúp giảm gánh nặng cho gia đình và xã hội.

Tuy nhiên, trong chẩn đoán di truyền trước làm tổ, lượng DNA đầu vào là rất ít, rất khó kiểm soát ngoại nhiễm; đồng thời có tỷ lệ mất alen (ADO) rất lớn, lên tới 25%, có thể dẫn tới tình trạng âm tính giả. Thực tế, tỉ lệ chẩn đoán sai nếu chỉ dùng

đơn độc phương pháp trực tiếp là từ 1-3% và con số này có lẽ còn cao hơn do hạn chế về báo cáo từ các trung tâm IVF.<sup>2</sup> Ở Việt Nam, trong một số năm trở lại đây đã áp dụng một kỹ thuật trực tiếp như GAP – PCR và StripAssay trong xét nghiệm di truyền trước chuyển phôi. Tuy nhiên, cả 2 kỹ thuật này đều xác định trực tiếp các tổn thương gen mà không kiểm soát được hiện tượng ADO và ngoại nhiễm nên kết quả chưa thể tin cậy hoàn toàn. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã sử dụng phương pháp gián tiếp phân tích liên kết gen dùng 8 marker STR (2 marker phía trước, 2 marker nằm trong vùng đột biến, 4 marker phía sau). Các STR sử dụng khảo sát nằm trong khoảng 1Mb từ vị trí của cụm gen HBA đảm bảo theo theo khuyến cáo của ESHRE.<sup>2</sup>

Khi phân tích kết quả điện di, khi xếp các marker STR theo halotype chúng tôi đã nhận thấy có hiện tượng ADO ở các marker HBA370 trên phôi số 3 và số 6 của gia đình 1, HBA950 trên phôi số 4, 5, 6 và 7 của gia đình 2. Nhờ sử dụng 8 marker STR nên chúng tôi vẫn đủ căn cứ để kết luận cho phôi, tuy nhiên đây vẫn là hiện tượng cần được kiểm soát trong việc phân tích trên mẫu phôi bảo có lượng DNA hạn chế.

Theo báo cáo của ESHRE tính đến nay đã có hàng nghìn chu kỳ thụ tinh ống nghiệm và làm PGT-M đã được thực hiện trên toàn thế giới kể từ lần thử đầu tiên vào năm 1990. Trong bài báo của DeRycke, các tác giả báo cáo về hơn 17.000 chu kỳ PGT-M với tỷ lệ mang thai lâm sàng trên mỗi lần lấy noãn là 21% và tỷ lệ mang thai lâm sàng trên mỗi lần chuyển phôi là 29%.<sup>7</sup>

Đối với bệnh  $\alpha$ -thalassemia, năm 2022 các tác giả Trung Quốc đã báo cáo kết quả sử dụng kỹ thuật NGS - phân tích gen liên kết để làm PGT M trên 36 cặp vợ chồng, 32 chu



kỳ dẫn đến mang thai lâm sàng, với tỷ lệ mang thai lâm sàng là 60,1% (32/53) mỗi chu kỳ FET. Hai hai chu kỳ (22 cặp vợ chồng) dẫn đến 23 ca sinh sống, với tỷ lệ sinh sống là 43,4% (23/53; 3 chu kỳ là thai lưu). Tất cả kết quả chẩn đoán trước sinh của 25 phôi và/hoặc phân tích gen bệnh thalassemia sau khi sinh đều phù hợp với kết quả xét nghiệm trước làm tổ.<sup>8</sup>

Trong 13 phôi của 2 gia đình tiến hành làm PGT-M, có 6/13 phôi không mang gen bệnh (46%), 5/13 phôi mang dị hợp tử đột biến (39%), 2/13 mang đồng hợp tử đột biến (15%). Từ kết quả này chúng tôi đã chọn được các phôi không mang gen và chuyển cho người vợ, thành công ngay lần chuyển phôi đầu tiên. Kết quả xét nghiệm sau sinh của 2 bé bằng phương pháp lai ngược dòng hoàn toàn phù hợp với kết quả xét nghiệm trên mẫu phôi bào, bước đầu ghi nhận sự thành công trong việc sử dụng phương pháp phân tích liên kết trong xét nghiệm trước làm tổ.

## V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã đã xác định được đột biến -SEA trên gen HBA bằng phương pháp phân tích liên kết gen trong chẩn đoán di truyền trước làm tổ bệnh Alpha thalassemia ở hai gia đình mang đột biến --SEA và sinh được hai em bé không mang gen bệnh.

## VI. LỜI CẢM ƠN

Nhóm nghiên cứu xin trân trọng gửi lời cảm ơn đến Bệnh viện đa khoa Tâm Anh, Trường Đại học Y Hà Nội, Học viện Quân Y đã giúp đỡ chúng tôi trong quá trình thực hiện nghiên cứu này.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Viprakit V.** Alpha-thalassemia syndromes: from clinical and molecular diagnosis to bedside management. *Eur Hematol Assoc.* 2013;7(1):329. Accessed June 17, 2022. <http://globin.cse.psu.edu/>
2. **Carvalho F, Coonen E, Goossens V, et al.** ESHRE PGT Consortium good practice recommendations for the organisation of PGT†. *Hum Reprod Open.* 2020;2020(3). doi:10.1093/hropen/hoaa021
3. **Chen M, Tan ASC, Cheah FSH, Saw EEL, Chong SS.** Identification of novel microsatellite markers. *Electrophoresis.* 2015;36(23):2914-2924. doi:10.1002/ELPS.201500146
4. **Đỗ TQM, Nguyễn NS, Bạch TNQ.** Xác định đột biến gen gây bệnh thalassemia ở trẻ em tại bệnh viện trẻ em Hải Phòng. *Tạp chí Y học Việt Nam.* 2021;509(1). doi:10.51298/VMJ.V509I1.1773
5. **Farashi S, Hartevelde CL.** Molecular basis of  $\alpha$ -thalassemia. *Blood Cells, Mol Dis.* 2018;70:43-53. doi:10.1016/J.BCMD.2017.09.004
6. **Taher A, Vichinsky E, Musallam K, Cappellini MD, Viprakit V, Weatherall SD.** Guidelines for the Management of Non Transfusion Dependent Thalassaemia (NTDT). *Guidel Manag Non Transfus Depend Thalass.* 2013;(19):84-91. Accessed June 17, 2022. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190453/>
7. **De Rycke M, Goossens V, Kokkali G, Meijer-Hoogeveen M, Coonen E, Moutou C.** ESHRE PGD Consortium data collection XIV–XV: cycles from January 2011 to December 2012 with pregnancy follow-up to October 2013. *Hum Reprod.* 2017;32(10):1974-1994. doi:10.1093/HUMREP/DEX265
8. **Ou Z, Deng Y, Liang Y, Chen Z, Sun L.** Using affected embryos to establish linkage phase in preimplantation genetic testing for thalassemia. *Reprod Biol Endocrinol.* 2022;20(1):1-10. doi:10.1186/S12958-022-00948-9/FIGURES/3