

IV-O-5.8

SỬ DỤNG CHỈ THỊ MICROSATELLITE XÂY DỰNG PHƯƠNG PHÁP CHẨN ĐOÁN PHÙ THAI THỂ HB BART'S Ở NGƯỜI VIỆT NAM

Hoàng Thanh Hải⁽¹⁾, Nguyễn Thị Huệ⁽²⁾, Nguyễn Khắc Hân Hoan⁽³⁾

(1) Khoa CNSH, Trường ĐH Quốc tế, ĐHQG-HCM

(2) Trường ĐH Quốc tế, ĐHQG-HCM

(3) Khoa Di truyền

Tóm tắt

Phù nhau thai Hb Bart's là một trong những thể nặng nhất của bệnh alpha-thalassemia do đồng hợp tử đột biến mất đoạn --SEA gây nên. Theo nghiên cứu trên quần thể người Đông Nam Á, đột biến mất đoạn --SEA có tần số cao nhất, đặc biệt ở Việt Nam. Ở Việt Nam, chẩn đoán trước sinh căn bệnh này thường được thực hiện bởi phương pháp multiplex gap-PCR, tuy nhiên kết quả chẩn đoán có thể bị sai lệch do nhiễm ADN mẹ trong mẫu thai nhi. Mục tiêu: xây dựng một phương pháp chẩn đoán trước sinh có thể đồng thời nhanh chóng phát hiện bệnh Hb Bart's và loại bỏ ngoại nhiễm. Phát triển phương pháp multiplex quantitative fluorescent PCR để chẩn đoán Hb Bart's bằng cách khuếch đại hai markers 16PTEL05 và 16PTEL06 nằm trong vùng đột biến mất đoạn --SEA. Hb Bart's được chẩn đoán khi không có sự xuất hiện của cả hai markers 16PTEL05 và 16PTEL06. Những mẫu thai nhi được xác định không nhiễm ADN mẹ khi không có sự xuất hiện những alen không được di truyền từ mẹ. 11 bộ mẫu DNA gồm của thai nhi và cha mẹ từ 11 gia đình đã xác định kiểu gene alpha-thalassemia bằng phương pháp Gap-PCR được thu thập. Những mẫu này sau đó được chẩn đoán Hb Bart's bằng phương pháp multiplex QF-PCR và kết quả phương pháp này được so sánh với kiểu gene đã biết trước đó. Kết quả: Sử dụng phương pháp multiplex QF-PCR, 1 mẫu thai nhi được xác định mắc Hb Bart's, 13 mẫu alpha-thalassemia carrier hoặc bình thường, và 19 mẫu bình thường. Kết quả này phù hợp với kiểu gene được xác định trước đó. Không có trường hợp nhiễm ADN mẹ được phát hiện. Như vậy, phương pháp multiplex QF-PCR dựa trên 2 marker 16PTEL05 và 16PTEL06 có thể áp dụng thành công trong việc chẩn đoán Hb Bart's hoặc sử dụng như một phương pháp thứ hai để xác nhận lại kết quả nhằm tránh sai sót trong chẩn đoán

APPLY MICROSATELLITE MARKERS IN PRENATAL DIAGNOSIS OF HB BART'S HYDROPS FETALIS IN VIETNAMESES

Abstract

Hemoglobin Bart's hydrops fetalis is a fatal condition associated with homozygous for --SEA deletion. The --SEA deletion has highest frequency in Southeast Asia including Vietnam. In Vietnam, prenatal diagnosis of the disease is usually done by gap-PCR where misdiagnosis may occur with allelic dropout and maternal contamination. A rapid prenatal diagnostic test for simultaneous detection of HbBarts hydrops fetalis and exclusion of maternal contamination is necessary to develop. A multiplex quantitative fluorescent PCR test that amplify of 2 microsatellite markers (16PTEL05/16PTEL06) located within breakpoints of the Southeast Asia (--SEA) was designed and optimized. Fetal and parental DNA samples from 11 families were examined and compared the result with their respective molecular genotypes. Hb Bart's hydrops fetalis is diagnosed by absence of both markers 16PTEL05 and 16PTEL06, and maternal contamination of fetal DNA is excluded by absence of non-inherited maternal alleles. The multiplex QF-PCR resulted in 1 sample with Hb Bart's hydrops fetalis, 13 samples as either α -thalassemia carriers ($\alpha\alpha$ --SEA) or unaffected homozygotes ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$), and the remaining 19 samples as unaffected. All cases are match to the previous GAP PCR results. with more information of parents to simultaneous detect Hb Bart's hydrops fetalis and exclude maternal contamination. Multiplex QF-PCR method based on three markers 16PTEL05, 16PTEL06 can be applied in prenatal diagnosis for detection of this disease or used as secondary method to confirm previous results to avoid misdiagnosis.

Email liên hệ: hai_hoang10888@yahoo.com.vn