

# XÁC ĐỊNH TÌNH TRẠNG BẤT ĐỒNG NHÓM MÁU Rh GIỮA MẸ VÀ THAI NHI QUA PHÂN TÍCH ADN PHÔI THAI TỰ DO TRONG MÁU MẸ

*Hồ Hữu Thọ\*; Trần Văn Khoa\**

*Nguyễn Duy Bắc\*; Triệu Tiến Sang\**

## TÓM TẮT

Nghiên cứu 9 phụ nữ có nhóm máu Rh (-), tuổi thai từ 7 - 27 tuần, 30 người nhóm máu Rh (+) làm chứng dương, 10 người nhóm máu Rh (-) làm chứng âm. Tách chiết và nhân lên ADN tự do trong máu mẹ bằng kỹ thuật PCR với mỗi đặc hiệu cho gen RhD. Tiến hành đồng thời chẩn đoán bằng huyết thanh nhóm máu Rh đối với các cặp vợ chồng tham gia nghiên cứu. 7/9 mẫu máu của phụ nữ mang thai có nhóm máu Rh (-) có chứa gen RhD. Chẩn đoán trước sinh nhóm máu Rh bằng biện pháp không can thiệp có thể thực hiện được nhanh ngay từ tuần thứ 7 của thai kỳ.

\* Từ khoá: Rh; ADN phôi thai tự do; Chẩn đoán trước sinh.

## DETERMINATION OF Rh BLOOD GROUP MATERNAL-FETAL INCOMPATIBILITY BY CELL-FREE DNA ANALYSIS FROM MATERNAL BLOOD

### SUMMARY

*Our study was carried out on 9 Rh (-) pregnant women at 7 - 27 weeks of gestation and 30 Rh (+) people as positive control and 10 Rh (-) people as negative control. DNA extracted from maternal plasma was extracted and analyzed for the RhD gene with polymerase-chain-reaction (PCR) test to detect the RhD gene in the samples. Rh status of the pregnant and her partner was also determined directly by serologic analysis. Among 9 Rh (-) pregnant women, 7 samples from the pregnant contained RhD gene, the other did not contain RhD gene. Noninvasive fetal Rh blood group detection can be performed rapidly with the use of maternal plasma from 7 week gestation of pregnancy.*

*\* Key words: Rh; Cell-free fetal DNA; Prenatal diagnosis.*

### ĐẶT VẤN ĐỀ

Hệ thống nhóm máu Rh có liên quan đến bệnh lý tan huyết ở trẻ sơ sinh [1, 2] hoặc truyền máu trong lâm sàng [6]. Sự

không hoà hợp nhóm máu Rh giữa mẹ và thai nhi xảy ra khi mẹ có nhóm máu Rh (-) và con có nhóm máu Rh (+). Từ lần mang thai thứ hai, nếu có sự bất đồng nhóm máu Rh giữa mẹ và thai nhi, thai nhi có khả năng

---

\*Học viện Quân y

Phản biện khoa học: PGS.TS. Hoàng Văn Lương

bị sảy, chết lưu, trẻ sơ sinh bị vàng da tan huyết, ú nước ở não... [2]. Việc xác định sớm tình trạng bất đồng nhóm máu Rh của thai nhi ngay từ lần mang thai đầu tiên có thể giúp cho việc chỉ định dùng anti-D để dự phòng những biến chứng có thể xảy ra cho lần mang thai tiếp theo [3]. Chọc ối, lấy máu cuống rốn v.v làm tăng nguy cơ tai biến do bất đồng nhóm máu Rh giữa mẹ và thai nhi và không được khuyến cáo sử dụng.

Từ năm 2007, Trung tâm nghiên cứu Y Dược học Quân sự, Học viện Quân y đã thành công trong tách chiết ADN tự do phôi thai từ máu ngoại vi người mẹ, là tiền đề cho phân tích di truyền phôi thai từ máu ngoại vi người mẹ, không cần can thiệp vào tử cung, buồng ối [5].

Từ những lý do trên, chúng tôi tiến hành đề tài nghiên cứu này nhằm mục tiêu: *Chẩn đoán nhóm máu Rh bằng kỹ thuật PCR qua phân tích ADN tự do phôi thai tách chiết được.*

## **ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

- Thu gom và chuẩn bị mẫu: máu ngoại vi của 9 phụ nữ mang thai có nhóm máu Rh (-), tuổi thai 7 - 27 tuần, mỗi mẫu 5 ml. 30 trường hợp có nhóm máu Rh (+) được lấy làm chứng dương và 10 người nhóm máu Rh (-) làm chứng âm, các mẫu nước cất cũng là mẫu chứng âm kèm với mẫu phân tích. Lấy mẫu máu vào ống đựng mẫu có chất chống đông EDTA. Ly tâm mẫu máu với tốc độ 1.600 vòng/phút/10 phút, tách ra huyết tương và bảo quản ở -80°C cho tới khi phân tích.

- Tách chiết ADN phôi thai: từ huyết tương máu mẹ bằng kit tách máu của QIAGEN BLOOD KIT [5].

Kỹ thuật PCR: gen RhD được khuếch đại nhờ mỗi đặc hiệu sau:

RhD-F: 5'-AAAGGGGTGGGTAGGGAATA-3' và

RhD-R: 5'-AGGTAGGGGCTGGACAGAA-3'

Thực hiện phản ứng PCR trên máy nhân gen ABI 9800 FAST. Thành phần của phản ứng bao gồm: dNTP 0,2 mM; Buffer 1X; MgCl<sub>2</sub> 5mM; RhD-F 0,2pM; RhD-R 0,2pM. Chu trình nhiệt được tiến hành theo các bước sau:

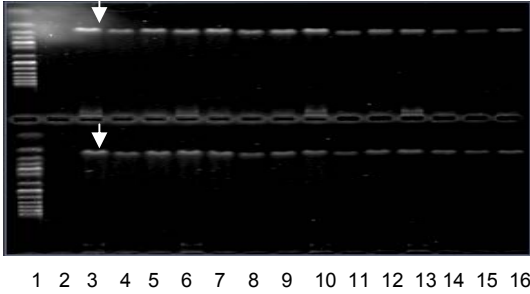
Chu trình nhiệt của phản ứng PCR được tiến hành theo các bước sau: 1 chu kỳ x 94°C x 4'; 30 chu kỳ x (94°C x 1'; 54°C x 1'; 72°C x 1'); 1 chu kỳ x 4°C x ∞.

Điện di sản phẩm PCR trên gen agarose và phân tích xác định bằng đặc hiệu với đoạn gen được nhân lên.

## **KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN**

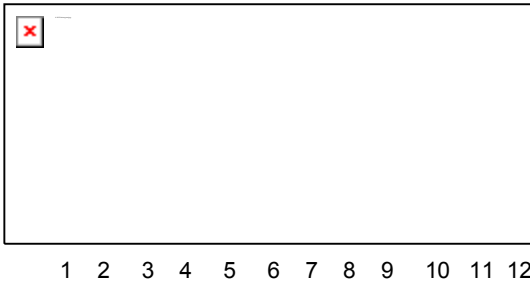
Qua phân tích, 7/9 phụ nữ mang thai từ tuần 8 - 10 cho kết quả dương tính sau khi nhân gen RhD (thai có nhóm máu Rh (+)), 3 trường hợp âm tính với gen này [thai có nhóm máu Rh (-)]. Tất cả các chứng dương đều cho kết quả dương tính, tất cả các chứng âm đều cho kết quả âm tính.

Dưới đây là hình ảnh điện di một số mẫu phát hiện gen đặc hiệu RhD qua phân tích ADN tự do phôi thai trong máu mẹ.



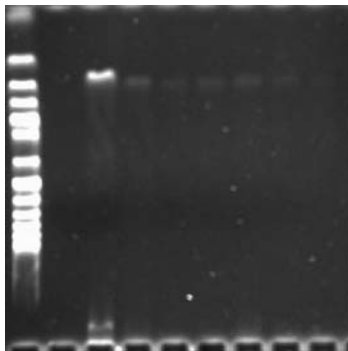
**Hình 1:** Mẫu chứng dương.

1: Thang chuẩn; 2: Chứng âm;  
3 - 16; Các chứng dương.



**Hình 2:** Mẫu chứng âm.

1: Thang chuẩn; 2: Chứng dương;  
3 - 12; Các chứng âm



**Hình 3:** Kết quả thai nhi nhóm máu Rh (+).

1: Thang chuẩn; 2: Chứng âm;  
3 - 9: Thai nhi dương tính với RhD [nhóm máu Rh (+)].

Kết quả cho thấy xác định nhóm máu Rh của thai nhi qua phân tích ADN phôi thai tự do trong huyết thanh máu mẹ hoàn toàn có thể thực hiện được ngay từ tuần thứ 8 của thai kỳ và cho kết quả chính xác. Kết quả này cũng khẳng định qua xét nghiệm nhóm máu Rh của trẻ sau sinh.

Một số công trình nghiên cứu của các tác giả khác cũng cho thấy xác định nhóm máu Rh bằng biện pháp không can thiệp qua phân tích ADN tự do trong máu mẹ cho kết quả với độ

chính xác tương đối cao. Finning K và CS (2004) nghiên cứu xác định nhóm máu Rh của thai nhi qua phân tích ADN trong máu mẹ trên 283 phụ nữ mang thai đã xác định chính xác (có xác định sau sinh) 223 trường hợp, chỉ có 3 trường hợp không tương ứng với chẩn đoán huyết thanh [4].

Zhong XY và CS (2000) [8] nghiên cứu nhóm máu Rh thai nhi trên 20 phụ nữ Rh(-) bằng biện pháp không can thiệp cũng cho kết quả với độ chính xác tới 100% [8].

Minon JM và CS (2008) tổng kết kinh nghiệm chẩn đoán nhóm máu Rh thai nhi qua phân tích ADN tự do phôi thai 581 trường hợp cho thấy độ chính xác 99,8% [6].

Những kết quả trên cho thấy xác định nhóm máu Rh thai nhi qua phân tích ADN tự do phôi thai trong máu mẹ có kết quả với độ chính xác cao.

## KẾT LUẬN

Đã tách chiết được ADN phôi thai tự do trong máu mẹ.

Chẩn đoán trước sinh nhóm máu Rh thai nhi từ tuần thứ 7 của thai kỳ cho kết quả chính xác ở 9/9 phụ nữ có máu Rh (-). Kết quả phân tích trên nhóm chứng âm và chứng dương cũng cho độ chính xác hoàn toàn.

Để tránh các tai biến do sự không hoà hợp nhóm máu Rh giữa mẹ và thai nhi, phụ nữ mang thai nên kiểm tra nhóm máu Rh và có chỉ định chẩn đoán nhóm máu Rh thai nhi trước sinh ở người có nhóm máu Rh (-) khi mang thai ngay từ lần đầu để phòng tránh những biến chứng xảy ra đối với thai nhi ở lần mang thai tiếp theo.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Văn Khoa, Nguyễn Duy Bắc, Hồ Hữu Thọ, Nguyễn Viết Trung. Phát hiện ADN phôi thai tự do trong huyết tương máu ngoại vi mẹ: ứng dụng cho chẩn đoán trước sinh bằng biện pháp không can thiệp. Báo cáo toàn văn. Hội nghị quốc tế tư vấn di truyền - sàng lọc và chẩn đoán trước sinh. Hà Nội. 2007, tr.214-218.

2. Bennett PR, Le Van Kim C, Colin Y, et al. Prenatal determination of fetal RhD type by DNA amplification. N Engl J Med. 1993, 329, pp.607-610.

3. Clarke CA, Whitfield AG, Mollison PL. Deaths from Rh haemolytic disease in England and Wales, BMJ. 1987, 294, p.1001.

4. Colin Y, Chérif-Zahar B, Le Van Kim C et al. Genetic basis of the RhD-positive and RhD-negative blood group polymorphism as determined by Southern analysis. Blood. 1991, 78, pp.2747-2752.

5. Finning K, Martin P, Daniels G. A clinical service in the UK to predict fetal RhD blood group using free fetal DNA in maternal plasma. Ann N Y Acad Sci. 2004, 1022, pp.119-123.

6. Bowman JM. The prevention of Rh immunization. Trans Med Rev. 1988, 2, pp.129-150.

7. Minon JM, Gerard C, Senterre JM, Schaaps JP, Foidart JM. Routine fetal RhD genotyping with maternal plasma: a four-year experience in Belgium.1: Transfusion. 2008, Jan, 22; 48 (2), pp.373-381. Epub 2007 Nov 26.

8. *Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M.* Blood transfusion in clinical medicine. 1993, 9th ed. Oxford, England: Blackwell Scientific. Pp.204-245.

9. *Zhong XY, Holzgreve W, Hahn S.* Detection of fetal Rhesus D and sex using fetal DNA from maternal plasma by multiplex polymerase chain reaction. *BJOG.* 2000, 107 (6), pp.766-769.