

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

LÊ HẠNH HUYÊN

**NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM CẬN LÂM SÀNG VÀ
ĐỘT BIẾN GENE JAK2 V617F TRÊN BỆNH NHÂN
TĂNG TIỂU CẦU TIÊN PHÁT TẠI BỆNH VIỆN
TRUNG ƯƠNG THÁI NGUYÊN**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC ỨNG DỤNG

THÁI NGUYÊN - 2019

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

LÊ HẠNH HUYÊN

**NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM CẬN LÂM SÀNG VÀ
ĐỘT BIẾN GENE JAK2 V617F TRÊN BỆNH NHÂN
TĂNG TIỂU CẦU TIÊN PHÁT TẠI BỆNH VIỆN
TRUNG ƯƠNG THÁI NGUYÊN**

Ngành: Công nghệ Sinh học

Mã số: 84 20 201

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC ỨNG DỤNG

**Hướng dẫn khoa học: 1. Ts. Nguyễn Thế Tùng
2. Ts. Nguyễn Thị Hải Yến**

THÁI NGUYÊN - 2019

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan các số liệu và kết quả trình bày trong luận văn là trung thực và chưa được ai công bố trong bất kỳ công trình nào. Mọi kết quả thu được không chỉnh sửa, sao hoặc chép từ các nghiên cứu khác. Mọi trích dẫn trong luận văn đều ghi rõ nguồn gốc.

Tác giả

Lê Hạnh Huyền

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành bản luận văn này tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành tới: Ban Giám hiệu, phòng Đào tạo, trường Đại học Khoa học - Đại học Thái Nguyên. Các thầy cô và cán bộ Khoa Công nghệ Sinh học đã tận tình dạy dỗ, truyền dạy kiến thức và kinh nghiệm nghiên cứu khoa học cho tôi trong những năm qua.

Tôi xin chân thành cảm ơn thầy giáo Ts. Nguyễn Thế Tùng và cô giáo Ts. Nguyễn Thị Hải Yến, người thầy đã định hướng nghiên cứu và tận tình hướng dẫn, chỉ bảo cho tôi trong suốt thời gian tôi thực hiện và hoàn thành luận văn này.

Trong suốt quá trình thực hiện đề tài, tôi đã nhận được rất nhiều sự quan tâm giúp đỡ từ khoa Miễn dịch-Di truyền phân tử Bệnh viện Trung Ương Thái Nguyên, gia đình, bạn bè, đồng nghiệp, những người luôn động viên, khích lệ, tạo cho tôi động lực và niềm say mê trong nghiên cứu khoa học. Tôi vô cùng biết ơn tất cả những tình cảm tốt đẹp mà mọi người đã dành cho tôi.

Thái Nguyên, tháng 11 năm 2019

Tác giả

Lê Hạnh Huyền

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN	ii
MỤC LỤC	iii
DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT	v
DANH MỤC BẢNG	vi
DANH MỤC HÌNH	vii
MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU NGHIÊN CỨU	3
1.1. Tổng quan về bệnh tăng tiểu cầu tiên phát	3
1.1.1. Giới thiệu về bệnh tăng tiểu cầu tiên phát	3
1.1.2. Cơ chế bệnh tăng tiểu cầu tiên phát	5
1.1.3. Triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng bệnh tăng tiểu cầu tiên phát	8
1.1.4. Chẩn đoán tăng tiểu cầu tiên phát	10
1.2. Tổng quan nghiên cứu về gene JAK2 V617F	12
1.2.1. Gene JAK2	12
1.2.2. Đột biến gene JAK2	13
CHƯƠNG 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	16
2.1. Vật liệu, hóa chất và thiết bị nghiên cứu	16
2.1.1. Vật liệu	16
2.1.2. Hóa chất và thiết bị nghiên cứu	16
2.2. Thời gian địa điểm nghiên cứu	17
2.3. Phương pháp xử lý số liệu	17
2.4. Phương pháp nghiên cứu	17
2.4.1. Thu thập mẫu nghiên cứu	17
2.4.2. Phân tích các đặc điểm cận lâm sàng	18
2.4.3. Xét nghiệm phát hiện đột biến gene JAK2 V617F	18
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	22

3.1. Đặc điểm chung của các đối tượng nghiên cứu	22
3.2. Các chỉ số huyết học của đối tượng nghiên cứu.	23
3.4. Kết quả nghiên cứu về tỉ lệ đột biến JAK2 V617F và đặc điểm huyết học của 2 nhóm có và không có đột biến JAK2 V617F	27
3.4.1. Kết quả tách chiết DNA tổng số và Thực hiện phản ứng AS-PCR kiểm tra đột biến JAK2 V617F từ mẫu máu các bệnh nhân.....	27
3.4.2. Tỉ lệ đột biến JAK2 V617F và đặc điểm huyết học của 2 nhóm có và không có đột biến JAK2 V617F	28
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	34
PHỤ LỤC	42

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Từ viết tắt	Giải nghĩa tiếng Anh	Giải nghĩa tiếng Việt
AS - PCR	Alen Specific – Polymerase chain Reaction	
CEL	Chronic eosinophilic leukemia	Bạch cầu mạn dòng acid
CML	Chronic megakaryocytic leukemia	Bạch cầu mạn dòng tủy
CNL	Chronic neutrophilic leukemia	Bạch cầu mạn dòng trung tính
DNA	Deoxyribonucleic Acid	
ECC	Endogenous erythroid colony	Cụm sinh hồng cầu
ET	Essential Thrombocythemia	Tăng tiểu cầu nguyên phát
GH	Growth hormone	Hormon tăng trưởng
Hgb	Hemoglobin	Huyết sắc tố
JKA2	Janus kinase 2	
LDH	lactate dehydrogenase	
LH	Luteinizing hormone	Nội tiết tố LH
MCV	Mean corpuscular volume	Thể tích trung bình hồng cầu
MPN	myeloproliferative neoplasm	Hội chứng tăng sinh tủy
MPV	Mean Platelet Volume	Thể tích trung bình tiểu cầu
NST		Nhiễm sắc thể
PCR	Polymerase Chain Reaction	Phản ứng chuỗi Polymerase
PLT	Platelets	Tiểu cầu
PV	polycythemia vera	Đa hồng cầu tiên phát
RBC	Red blood cell	Hồng cầu
WBC	White Blood cell	Bạch cầu
WHO	World Health Organization	Tổ chức Y tế thế giới

DANH MỤC BẢNG

Bảng 3.1. Phân bố giới tính và độ tuổi của của đối tượng nghiên cứu	22
Bảng 3.2. Các chỉ số dòng tiểu cầu của các nhóm đối tượng nghiên cứu theo giới ($X \pm SD$)	23
Bảng 3.3. Tần xuất đối tượng nghiên cứu theo mức số lượng tiểu cầu	23
Bảng 3.4. Chỉ số dòng hồng cầu của các nhóm đối tượng nghiên cứu theo giới ($X \pm SD$)	24
Bảng 3.5. Một số chỉ số hồng cầu lưới ở máu ngoại vi của các nhóm đối tượng nghiên cứu theo giới ($X \pm SD$)	24
Bảng 3.6. Tần xuất đối tượng nghiên cứu theo mức chỉ số hồng cầu lưới ở máu ngoại vi.....	25
Bảng 3.7. Số lượng và tỉ lệ các loại bạch cầu của đối tượng nghiên cứu theo giới ($X \pm SD$)	25
Bảng 3.8. Một số chỉ số hóa sinh của các nhóm đối tượng nghiên cứu theo giới ($X \pm SD$)	26
Bảng 3.9. Các chỉ số dòng tiểu cầu của các nhóm đối tượng nghiên cứu theo nhóm có đột biến và nhóm không có đột biến ($X \pm SD$).....	29
Bảng 3.10. Tần xuất 2 nhóm nghiên cứu nhóm có đột biến và không có đột biến theo mức số lượng tiểu cầu	29
Bảng 3.11. Các chỉ số dòng hồng cầu của các nhóm đối tượng nghiên cứu theo nhóm có đột biến và không có đột biến ($X \pm SD$)	30
Bảng 3.12. Một số chỉ số hồng cầu lưới ở máu ngoại vi của các đối tượng nghiên cứu theo nhóm có đột biến và không có đột biến ($X \pm SD$). 31	31
Bảng 3.13. Tần xuất đối tượng nghiên cứu ở nhóm có đột biến và không có đột biến theo mức chỉ số hồng cầu lưới ở máu ngoại vi.....	31
Bảng 3.14. Số lượng và tỉ lệ các loại bạch cầu của đối tượng nghiên cứu theo nhóm có đột biến và không có đột biến ($X \pm SD$).....	32

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1.	Tiểu cầu trong máu ngoại vi	3
Hình 1.2.	Hình ảnh đột biến gene JAK2 V617F gây bệnh tăng sinh tủy	6
Hình 1.3.	Tiêu bản máu dàn của bệnh nhân tăng tiểu cầu nguyên phát	9
Hình 1.4.	Vị trí của nhiễm sắc thể chứa gene JAK2	13
Hình 1.5.	Đột biến gene liên quan đến bệnh tiểu cầu	14
Hình 3.1.	Hình ảnh điện di kiểm tra sản phẩm AS-PCR xác định đột biến gene JAK2 V617F từ các mẫu máu bệnh nhân	28

MỞ ĐẦU

Hội chứng tăng sinh tủy (Myeloproliferative neoplasm - MPN) là một nhóm bệnh của tủy xương do phát triển riêng một dòng hoặc tất cả các dòng tế bào tạo ra tại tủy. Theo Tổ chức Y tế thế giới (WHO) nhóm này bao gồm 7 bệnh: Bạch cầu mạn dòng tủy (CML), Bạch cầu mạn dòng Neutrophil (CNL), Bạch cầu mạn dòng Eosinophil (CEL), Đa hồng cầu nguyên phát (PV), Tăng tiểu cầu nguyên phát (ET), Xơ tủy vô căn và tăng sinh tế bào Mast. Tất cả đều có nguyên nhân từ tế bào máu gốc vạn năng sản sinh quá mức một hoặc nhiều dòng tế bào, một số bệnh thuộc nhóm này chuyển thành bạch cầu cấp. Các bệnh đa hồng cầu nguyên phát, Tăng tiểu cầu tiên phát và xơ tủy vô căn có thể chuyển dạng lẫn nhau [4], [5].

Bệnh nhân mắc bệnh tăng tiểu cầu tiên phát, số lượng tiểu cầu thường tăng từ 500 đến 1000 G/l. Số lượng tiểu cầu tăng cao trong bệnh tăng tiểu cầu nguyên phát thường kèm theo tăng thêm một hoặc một vài yếu tố nguy cơ biến chứng. Trên thực tế, số lượng tiểu cầu cao không nhất thiết có bất kỳ dấu hiệu lâm sàng nào và hầu như những trường hợp mắc bệnh thường được phát hiện qua việc xét nghiệm công thức máu. Tuy nhiên, cần khai thác rõ tiền sử để loại trừ khả năng mắc bệnh tăng tiểu cầu thứ phát.

Ngày nay nhờ sự tiến bộ về sinh học phân tử và di truyền tế bào, bệnh tăng tiểu cầu tiên phát được biết đến có liên quan đến đột biến gene JAK2 tại vị trí 617, Guanine (G) được thay bằng Thymine (T) và kết quả là Valine (V) được thay bằng Phenylalanine (P). Đột biến này làm xáo trộn dẫn truyền qua trục gene JAKSTAT, làm sản sinh quá mức các tế bào máu không kiểm soát được. Nhóm bệnh này có tiên lượng khá tốt, các phương pháp điều trị kinh điển gồm các thuốc Hydroxyurea, Busulfan, Interferon, Bipobroman... có thể kiểm soát được bệnh và kéo dài thời gian sống 10 -