

- Tomography Angiography. Investigative ophthalmology & visual science. Feb 1 2024;65(2):6. doi:10.1167/iov.65.2.6
8. **Wons J, Pfau M, Wirth MA, Freiberg FJ, Becker MD, Michels S.** Optical Coherence Tomography Angiography of the Foveal Avascular Zone in Retinal Vein Occlusion. *Ophthalmologica*. 2016;235(4):195-202. doi:10.1159/000445482
9. **Winegarner A, Wakabayashi T, Hara-Ueno C, et al.** Retinal microvasculature and visual acuity after intravitreal aflibercept in eyes with central retinal vein occlusion: An Optical Coherence Tomography Angiography Study. *Retina*. Oct 2018;38(10):2067-2072. doi:10.1097/IAE.0000000000001828
10. **Seknazi D, Coscas F, Sellam A, et al.** Optical coherence tomography angiography in retinal vein occlusion: Correlations Between Macular Vascular Density, Visual Acuity, and Peripheral Nonperfusion Area on Fluorescein Angiography. *Retina*. Aug 2018;38(8):1562-1570. doi:10.1097/IAE.0000000000001737.

XÉT NGHIỆM DI TRUYỀN TRƯỚC LÀM TỔ BỆNH HEMOPHILIA B BẰNG PHÂN TÍCH CÁC STR LIÊN KẾT GEN F9

Nguyễn Bá Tiến¹, Vũ Thị Huyền¹,
Nguyễn Thị Nga², Đặng Tiến Trường³

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Hemophilia B là bệnh máu khó đông di truyền liên kết NST X do đột biến gen F9, chưa có điều trị triệt để. PGT-M là biện pháp hiệu quả giúp dự phòng truyền gen bệnh sang thế hệ sau. **Mục tiêu:** Xác định biến thể F9 gây bệnh trên phôi trước làm tổ của ba gia đình mang gen bệnh bằng phân tích STR. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu chùm ca bệnh trên mẫu máu và tế bào phôi sau IVF của ba gia đình mang biến thể c.880C>T và c.676C>T. Các kỹ thuật sử dụng gồm PGT-M, Multiplex PCR, điện di mao quản, phân tích liên kết STR và giải trình tự Sanger. **Kết quả:** Thiết lập được sơ đồ liên kết gen F9 của ba gia đình và phân tích trên 8 mẫu phôi bào để xác định biến thể gen F9 gây bệnh Hemophilia B. **Kết luận:** Xác định được biến thể gen F9 của phôi bằng phương pháp phân tích các STR liên kết gen trong xét nghiệm di truyền trước làm tổ bệnh Hemophilia B.

Từ khoá: Hemophilia B, PGT-M, STR.

SUMMARY

PREIMPLANTATION GENETIC TESTING FOR HEMOPHILIA B USING STR LINKAGE ANALYSIS OF F9 GENE

Background: Hemophilia B is an X-linked inherited bleeding disorder caused by mutations in the F9 gene, with no curative treatment currently available. Preimplantation genetic testing for monogenic disorders (PGT-M) is an effective approach to prevent transmission of the pathogenic variant to the next generation. **Objective:** To identify F9 pathogenic variants in preimplantation embryos from three carrier families using STR analysis. **Materials and Methods:** A case-series study was conducted on peripheral blood samples and biopsied embryos after

IVF from three families carrying F9 variants c.880C>T and c.676C>T. Techniques applied included PGT-M, multiplex PCR, capillary electrophoresis, STR-based linkage analysis, and Sanger sequencing. **Results:** The F9 linkage maps of the three families were successfully established, and eight embryo samples were analyzed to determine the presence of the pathogenic F9 variants causing Hemophilia B. **Conclusion:** The pathogenic F9 variants in embryos were accurately identified using STR-based linkage analysis in PGT-M for Hemophilia B.

Keywords: Hemophilia B, PGT-M, STR.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hemophilia B là rối loạn đông máu di truyền liên kết nhiễm sắc thể X do đột biến gen F9, dẫn đến giảm hoạt tính yếu tố IX. Bệnh ít phổ biến hơn Hemophilia A và chiếm khoảng 15–20% các trường hợp Hemophilia, với tỷ lệ mắc 1/30.000 nam giới[1–2]. Hơn 3000 biến thể F9 đã được ghi nhận có liên quan đến bệnh[2].

Dù hiếm gặp, Hemophilia B là bệnh lý mạn tính, điều trị kéo dài và tốn kém, ảnh hưởng đáng kể đến chất lượng sống và có thể đe dọa tính mạng. Phương pháp điều trị chủ yếu hiện nay vẫn là bổ sung yếu tố đông máu khi chảy máu không kiểm soát. Vì vậy, dự phòng sinh con mắc bệnh là hướng tiếp cận hiệu quả nhất đối với các gia đình mang gen bệnh.

Trong các biện pháp dự phòng, xét nghiệm di truyền trước làm tổ (PGT-M) được đánh giá hiệu quả nhờ kết hợp IVF với phân tích di truyền để lựa chọn phôi không mang đột biến. Tuy nhiên, chẩn đoán trên mẫu tế bào phôi gặp khó khăn do lượng DNA thấp, nguy cơ mất alen (ADO) và ngoại nhiễm, với tỷ lệ có thể tới 30%[3]. Do đó, cần phối hợp phương pháp gián tiếp, trong đó phân tích STR được sử dụng rộng rãi nhờ tính đa hình cao và khả năng theo dõi di truyền.

Tại Việt Nam, nghiên cứu về PGT-M cho Hemophilia B còn hạn chế. Bài báo này trình bày

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Công Ty TNHH KHKT&DV Genome

³Học viện Quân y

Chịu trách nhiệm chính: Đặng Tiến Trường

Email: truongdtvmmu@gmail.com

Ngày nhận bài: 2.10.2025

Ngày phản biện khoa học: 13.11.2025

Ngày duyệt bài: 4.12.2025

kết quả thực hiện PGT-M ở ba gia đình mang gen bệnh, với mục tiêu: "Xác định biến thể gen F9 gây bệnh Hemophilia B của phôi trước làm tổ bằng phương pháp phân tích STR."

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu. Nghiên cứu chùm ca bệnh được thực hiện trên mẫu máu ngoại vi và mẫu tế bào sinh thiết phôi nang thu được sau IVF của 3 gia đình mang các biến thể c.880C>T và c.676C>T trên gen F9 gây bệnh Hemophilia B. Tổng cộng, nghiên cứu thu nhận 9 mẫu DNA từ máu ngoại vi và 8 sản phẩm WGA từ tế bào phôi nang của ba gia đình.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

*** Kỹ thuật PGT-M được triển khai theo hai giai đoạn:**

- Giai đoạn tiền lâm sàng: gồm khảo sát biến thể gây bệnh trong gia đình và đánh giá quy luật di truyền; xác định haplotype nguy cơ nhằm phục vụ phân tích di truyền cho các mẫu phôi.

- Giai đoạn phân tích mẫu phôi: tiếp theo thực hiện phân tích di truyền liên kết dựa trên bộ haplotype gồm các chỉ thị STR liên kết với alen đột biến để xác định tình trạng mang gen của phôi.

*** Các kỹ thuật được sử dụng:**

- Khuếch đại toàn bộ hệ gen (WGA): Tế bào phôi được khuếch đại bằng bộ REPLI-g Single Cell Kit (QIAGEN) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

- Tách chiết DNA: DNA tổng số được tách từ 200 µL máu ngoại vi bằng bộ QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN).

- Giải trình tự Sanger: Biến thể c.880C>T và c.676C>T trên gen F9 được xác định bằng bộ BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific). Trình tự nucleotide được phân tích bằng phần mềm BioEdit Sequence Alignment Editor.

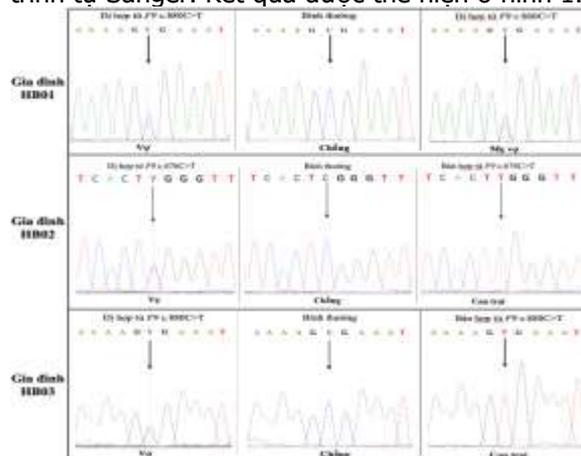
- Xác định kiểu gen của các STR: PCR vòng 1 (Multiplex PCR) có tổng thể tích 50 µL gồm: 1X QIAGEN Multiplex PCR Master Mix; 50–100 ng DNA; 9 cặp mỗi STR. Chu trình nhiệt trên máy ProFlex (ABI, Thermo Fisher): 95°C 15 phút; 32 chu kỳ (94°C 30 giây – 60°C 90 giây – 72°C 1 phút); cuối 60°C 30 phút. PCR vòng 2 (gắn huỳnh quang): tổng thể tích 20 µL gồm: 1X QIAGEN Multiplex PCR Master Mix; 1 µL sản phẩm PCR vòng 1; 0,2 µM mỗi mỗi gắn màu (HEX, FAM, NED) với chu trình nhiệt tương tự vòng 1.

- Điện di và phân tích: Sản phẩm PCR được biến tính và điện di mao quản trên hệ thống ABI 3500. Kiểu gen STR được phân tích bằng GenMapper 6.0. Haplotype nguy cơ và không nguy cơ của các thành viên gia đình được xác định bằng phân tích liên kết.

- Phân tích liên kết gen: Các haplotype được xác định nhờ việc xác định các alen của các STR theo cột và mã hóa bằng màu sắc khác nhau, sau khi xác định kiểu gen ở các thành viên trong gia đình. Haplotype nguy cơ và không nguy cơ được xác định nhờ theo dõi sự di truyền trong gia đình. Mức độ thông tin của từng STR được phân loại thành đầy đủ thông tin là các STR có các alen khác biệt giữa các thành viên, cho phép xác định rõ haplotype nguy cơ và haplotype không nguy cơ; STR bán thông tin (semi-informative marker) là các STR chỉ cho phép xác định haplotype trong một số trường hợp nhất định; STR không thông tin là các STR không đủ khả năng phân biệt haplotype của gia đình, do không có sự khác biệt alen có ý nghĩa cho phân tích.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

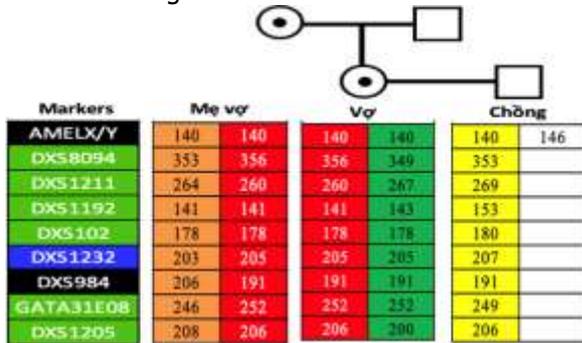
3.1. Kết quả thiết lập tiền lâm sàng cho các gia đình có biến thể gây bệnh trên gen F9. Chúng tôi tiến hành xác định trực tiếp biến thể ở các thành viên gia đình bằng kỹ thuật giải trình tự Sanger. Kết quả được thể hiện ở hình 1.



Hình 1. Kết quả giải trình tự Sanger các mẫu thành viên các gia đình

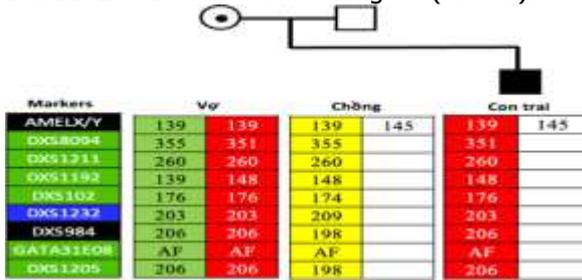
Kết quả phân tích STR liên kết gen của gia đình được trình bày tại hình 2. Bộ haplotype của người vợ được ký hiệu bằng cột màu đỏ và cột màu xanh, trong khi bộ haplotype của người chồng được biểu diễn bằng cột màu vàng và cột màu trắng. Người vợ mang biến thể gây bệnh trên NST X ở trạng thái dị hợp và được di truyền từ mẹ; do đó, cột màu đỏ được xác định là haplotype nguy cơ, chứa alen đột biến di truyền từ mẹ sang người vợ. Cột màu trắng chỉ hiện kết quả tại marker AMEL, cho thấy đây là haplotype liên kết NST Y của người chồng. Từ các dữ liệu này, gia đình HB01 đã được thiết lập và xác định thành công haplotype nguy cơ và haplotype không nguy cơ, phục vụ phân tích PGT-M. Đánh

giá mức độ thông tin của các STR cho thấy: STR đầy đủ thông tin: DXS8094, DXS1211, DXS1192; STR bán thông tin: DXS1205.



Hình 2. Sơ đồ phả hệ xác định haplotype trên các thành viên gia đình HB01

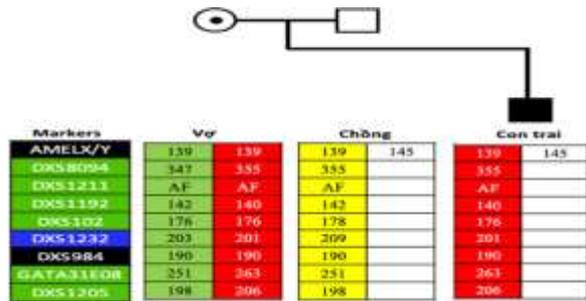
Tương tự, kết quả phân tích của gia đình HB02 đã thực hiện thành công quá trình thiết lập và xác định được haplotype nguy cơ và không nguy cơ. Đồng thời cũng đánh giá được tính thông tin của các STR: STR DXS8094 và DXS1192 là 2 marker bán thông tin (Hình 3).



Hình 3. Sơ đồ phả hệ xác định haplotype trên các thành viên gia đình HB02

(AF: Amplification Failure)

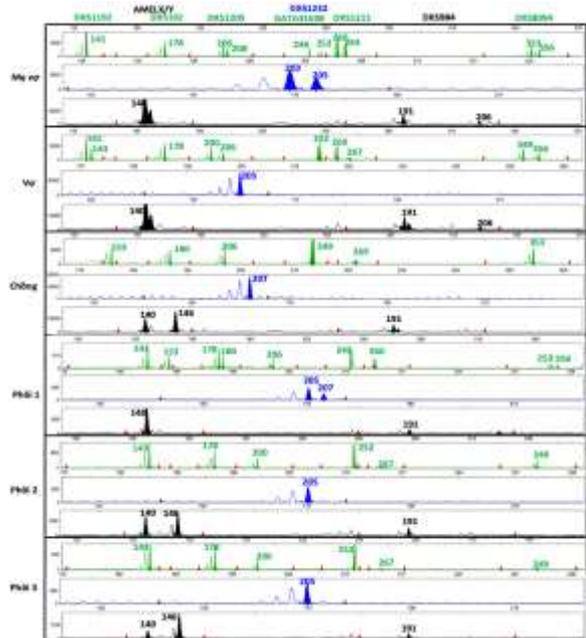
Tương tự, kết quả phân tích của gia đình HB03 cho thấy bộ haplotype của người vợ là cột màu đỏ và màu xanh, bộ haplotype của người chồng là cột màu vàng và màu trắng. Bộ haplotype của người con trai là cột màu đỏ và màu trắng, trong đó cột màu trắng chỉ thể hiện 1 marker duy nhất là AMEL nên đây là bộ haplotype liên kết NST Y di truyền từ bố suy ra cột màu đỏ di truyền từ người mẹ. Vì người con trai bị bệnh mang kiểu gen bán hợp tử F9 c.880C>T liên kết NST X di truyền từ người mẹ, chúng tôi kết luận cột màu đỏ là bộ haplotype chứa gen đột biến. Đồng thời cũng đánh giá được tính thông tin của các STR trong đó có STR DXS1232 là marker đầy đủ thông tin, các STR DXS1192, DXS1205, GATA31E08 và DXS8094 là marker bán thông tin (Hình 4). Chúng tôi đã thiết lập thành công giai đoạn tiền lâm sàng cho gia đình HB03.



Hình 4. Sơ đồ phả hệ xác định haplotype trên các thành viên gia đình HB03

3.2. Kết quả phân tích phôi. Đầu tiên, các mẫu phôi sinh thiết sẽ được thực hiện kỹ thuật khuếch đại toàn bộ hệ gen. Sau đó, chúng tôi áp dụng quy trình xác định kiểu gen các STR thông qua điện di mao quản và phân tích di truyền liên kết thông qua các STR. Đồng thời, chúng tôi tiến hành xác định trực tiếp biến thể bằng kỹ thuật Sanger. Trong quá trình phân tích, các STR đầy đủ thông tin và bán thông tin được ưu tiên sử dụng để xác định haplotype. Kết quả được thể hiện ở các hình sau:

Gia đình HB01:



Hình 5. Xác định kiểu gen các STR bằng phần mềm Genmapper 6.0 trên gia đình HB01

ảnh hưởng bởi các sai số này. Do đó, phân tích liên kết gen bằng các marker STR được ưu tiên sử dụng nhằm theo dõi sự di truyền alen đột biến và kiểm soát ADO.

Kể từ trường hợp đầu tiên được Alan Handyside báo cáo năm 1990, đã có hàng nghìn chu kỳ IVF kết hợp PGT-M được thực hiện trên toàn thế giới[6]. Một nghiên cứu tại Tây Ban Nha năm 2015 báo cáo chẩn đoán trước làm tổ cho 34 cặp vợ chồng, trong đó 30 cặp mang gen Hemophilia A được phân tích bằng STR liên kết gen F8, và 4 cặp mang gen Hemophilia B chỉ thực hiện chọn phôi nữ dựa trên xác định giới tính[7].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, gia đình HB01 ghi nhận hiện tượng ADO tại hai marker DXS1211 và GATA31E08 trên phôi số 1. Tuy nhiên, nhờ sử dụng bộ 9 marker STR, chúng tôi vẫn thu được đủ thông tin để xác định tình trạng di truyền của phôi, cho thấy ADO vẫn là yếu tố cần được kiểm soát chặt chẽ khi phân tích mẫu phôi có lượng DNA thấp. Quy trình PGT-M được thực hiện theo khuyến cáo ESHRE 2020, kết hợp kỹ thuật trực tiếp (giải trình tự Sanger) với phương pháp gián tiếp (phân tích STR liên kết với gen F9) nhằm tăng độ chính xác[3]. Kết quả kiểu gen phôi từ hai phương pháp hoàn toàn trùng khớp, góp phần củng cố độ tin cậy của chẩn đoán.

Kỹ thuật xét nghiệm trước làm tổ cho Hemophilia B cho thấy giá trị ứng dụng cao trong thực hành lâm sàng, góp phần loại bỏ gen bệnh

hoặc nguy cơ mắc bệnh ở thế hệ sau cho các gia đình mang gen bệnh.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định được biến thể gen F9 gây bệnh Hemophilia B ở 8 phôi bào ở 3 gia đình mang gen bệnh bằng phân tích các STR liên kết gen.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Swystun LL, James P**, "Using genetic diagnostics in hemophilia and von Willebrand disease". *Hematology*. 2015, p. 152-159.
2. **Goodeve A. C**, "Hemophilia B: molecular pathogenesis and mutation analysis". *J Thromb Haemost*. 2015, p. 1184-1195.
3. **ESHRE PGT-M Working Group, Filipa Carvalho, et al**, "ESHRE PGT Consortium good practice recommendations for the detection of monogenic disorders". *Hum Reprod Open*. 2020, p. hoaa018.
4. **Jayandharan, G.R , A. Srivastava, and A. Srivastava**, "Role of molecular genetics in hemophilia: from diagnosis to therapy". *Semin Thromb Hemost*. 2012, p. 64-78.
5. **DiMichele D**, "Inhibitors in Hemophilia: A Primer", Montreal, Canada: World Federation of Hemophilia. 2008.
6. **De Rycke M, et al**, "ESHRE PGD Consortium data collection XIV–XV: cycles from January 2011 to December 2012 with pregnancy follow-up to October 2013". *Hum Reprod*. 2017, p. 1974-1994.
7. **Fernández RM, Peciña A, Sánchez B, et al**, "Experience of preimplantation genetic diagnosis for hemophilia at the University Hospital Virgen Del Rocio in Spain: Technical and clinical overview. *BioMed Research International*". 2015.

CẬP NHẬT BẰNG CHỨNG VỀ GIẢM ĐAU ĐA MÔ THỨC SAU PHẪU THUẬT GAN: CƠ SỞ LỰA CHỌN THUỐC GIẢM ĐAU TOÀN THÂN VÀ GÂY TÊ VÙNG

Huỳnh Văn Bình¹, Lương Toàn Hoàng Long¹, Nguyễn Trung Cường¹, Nguyễn Trọng Thắng¹

TÓM TẮT

Phẫu thuật gan là một trong những phẫu thuật lớn, tiềm ẩn nguy cơ đau sau mổ cao, ảnh hưởng đến hồi phục và chất lượng chăm sóc nếu không được kiểm soát tốt. Giảm đau đa mô thức, bao gồm gây tê vùng như tê ngoài màng cứng ngực, tê mặt phẳng ngang bụng, tê mặt phẳng cơ dựng sống, truyền thuốc tê qua catheter vết mổ, phối hợp với các thuốc giảm đau toàn thân như paracetamol và NSAIDs, đã

được chứng minh hiệu quả qua nhiều nghiên cứu gần đây. Kỹ thuật tê ngoài màng cứng vẫn được xem là kỹ thuật giảm đau chuẩn, nhưng có nhiều bất lợi. Gần đây, các nghiên cứu cho thấy một kỹ thuật tê vùng mới như tê mặt phẳng ngang bụng, tê mặt phẳng cơ dựng sống, và tê thẩm vết mổ có thể là lựa chọn thay thế. Bài tổng quan này cung cấp các bằng chứng cập nhật và phân tích chi tiết các nghiên cứu, so sánh hiệu quả, hạn chế và khuyến cáo thực hành lâm sàng theo bằng chứng. **Từ khóa:** Giảm đau đa mô thức, giảm đau sau phẫu thuật gan, tê ngoài màng cứng, tê mặt phẳng ngang bụng, tê mặt phẳng cơ dựng sống, tê thẩm vết mổ.

SUMMARY

UPDATED EVIDENCE ON MULTIMODAL ANALGESIA AFTER LIVER SURGERY:

¹Bệnh viện Nhân dân Gia Định

Chịu trách nhiệm chính: Huỳnh Văn Bình

Email: binhhv@bvndgiadinh.org.vn

Ngày nhận bài: 01.10.2025

Ngày phản biện khoa học: 13.11.2025

Ngày duyệt bài: 3.12.2025