

QUY TRÌNH KỸ THUẬT REAL-TIME PCR SYBR CHẨN ĐOÁN BIẾN THỂ RS216321 TRÊN GEN VWF Ở NGƯỜI BỆNH XUẤT HUYẾT NỘI SỌ TỰ PHÁT

Phạm Phú Song Huy¹, Nguyễn Hưng Thịnh²,
Nguyễn Hoàng Tuyết Minh¹, Nguyễn Hữu Ngọc Tuấn²

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xây dựng quy trình kỹ thuật real-time PCR SYBR chẩn đoán biến thể rs216321 trên gen VWF ở bệnh nhân xuất huyết nội sọ tự phát. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Thiết kế 3 đoạn mỗi đặc hiệu cho biến thể, đánh giá độ đặc hiệu đoạn mỗi và tối ưu hóa nồng độ đoạn mỗi. Xác định đặc điểm chẩn đoán biến thể rs216321 của phản ứng real-time PCR trên hệ thống QuantStudio 5 (Thermo Fisher). Áp dụng quy trình đã tối ưu lên 22 mẫu đã được giải trình tự Sanger nhằm đánh giá độ nhạy, độ đặc hiệu và độ xác thực. **Kết quả:** Xây dựng thành công quy trình real-time PCR bao gồm: thiết kế và đánh giá độ đặc hiệu 3 đoạn mỗi bằng phương pháp điện di gel Labchip (1 đỉnh cường độ sáng phân tách rõ), tối ưu hóa nồng độ đoạn mỗi (250 nM), xác định được giá trị $|\Delta Ct| = 3$ để phân biệt kiểu gen. Độ nhạy, độ đặc hiệu, độ xác thực đạt 100%. **Kết luận:** Đã xây dựng quy trình real-time PCR để xác định biến thể đa hình đơn nucleotide rs216321 trên gen VWF. Quy trình áp dụng trên người bệnh, làm cơ sở để khảo sát cỡ mẫu lớn mang tính đại diện. Từ đó tạo nên nguồn dữ liệu, thông tin về biến thể trên quần thể người Việt Nam.

Từ khóa: Real-time PCR, rs216321, VWF, xuất huyết nội sọ tự phát.

SUMMARY

OPTIMIZED ALLELE-SPECIFIC REAL-TIME PCR ASSAYS FOR THE DETECTION OF THE rs216321 VARIANT IN VWF GENE IN PATIENTS WITH SPONTANEOUS INTRACRANIAL HEMORRHAGE

Objective: To develop a SYBR Green real-time PCR assay to detect the rs216321 variant gene VWF in patients with spontaneous intracranial hemorrhage. **Materials and methods:** Designing three allele-oligonucleotide primers, evaluating their specificity and optimizing their concentration. Determining the diagnostic characteristics of the rs216321 variant by performing a real-time PCR reaction on the QuantStudio 5 system (Thermo Fisher). Applied the optimized procedure to 22 Sanger-sequenced samples to evaluate sensitivity, specificity and accuracy. **Results:** Successfully built real-time PCR process, including designing and evaluating the specificity of three primers using the Labchip gel electrophoresis

method (with one clearly separated light intensity peak), optimizing the primer concentration (250 nM) and determining the absolute value of ΔCt to be 3 in order to distinguish genotypes. The sensitivity, specificity and accuracy reached 100 percent. **Conclusions:** Built a real-time PCR to identify the single nucleotide polymorphic variant rs216321 in VWF gene. This procedure was applied to patients, providing a basis for surveying a large, representative sample size. This creates a source of data and information about variations in the Vietnamese population.

Keywords: Real-time PCR, rs216321, VWF, sICH.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đột quy là một trong những nguyên nhân hàng đầu gây tàn tật lâu dài và tử vong trên toàn thế giới và Việt Nam. Trong đó, xuất huyết nội sọ tự phát (Spontaneous Intracerebral Hemorrhage, sICH) là nguyên nhân gây đột quy phổ biến thứ 2 với tỷ lệ tử vong trong vòng 30 ngày ước tính từ 44% đến 52% [1]. Trong những năm gần đây, xu hướng di truyền được tìm thấy trong ICH chỉ ra rằng các biến thể di truyền đóng góp đáng kể vào việc hình thành và lan rộng của ổ xuất huyết. Đáng chú ý là biến thể rs216321 trên gen mã hóa yếu tố von Willebrand (vWF), hình thành do sự thay thế nucleotide T thành C tại vị trí nucleotit thứ 6034818 trên gen VWF [2,3], dẫn đến sự biến đổi axit amin Arginine thành Glutamine tại vị trí axit amin thứ 852 trên protein [3,4], làm giảm khả năng hoạt hóa tiểu cầu và góp phần sự tăng trưởng của ổ xuất huyết [5]. Do đó, việc phát hiện sớm các bệnh nhân có nguy cơ cao lan rộng khối máu tụ sẽ giúp có những phương pháp dự phòng tích cực cho bệnh nhân [6].

Tại Việt Nam, những hiểu biết về biến thể rs216321 trên gen VWF còn hạn chế, gây khó khăn phần nào cho công tác thực hành lâm sàng và dự phòng cho bệnh nhân ICH. Từ đó, đặt ra nhu cầu về một công cụ có độ tin cậy cao và chi phí phù hợp, nhằm xác định giá trị lâm sàng của biến thể rs216321. Mặc dù được xem là "tiêu chuẩn vàng" trong xác định các biến thể đa hình đơn nucleotit (SNP), kỹ thuật giải trình tự gen Sanger (SGS) có chi phí cao và quy trình tương đối phức tạp. Trong số các kỹ thuật sinh học phân tử khảo sát các biến thể đã được áp dụng, phương pháp real-time PCR với độ tin cậy cao,

¹Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

²Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Hữu Ngọc Tuấn

Email: nhntuan@pnt.edu.vn

Ngày nhận bài: 6.10.2023

Ngày phản biện khoa học: 15.11.2023

Ngày duyệt bài: 15.12.2023

chi phí phù hợp và đã được sử dụng rộng rãi trên thế giới để chẩn đoán lâm sàng các bệnh di truyền, ứng dụng trong các nghiên cứu. Vì vậy, nhóm nghiên cứu tiến hành xây dựng quy trình kỹ thuật real-time PCR dùng chất huỳnh quang SYBR để chẩn đoán rs216321 trên gen VWF ở bệnh nhân xuất huyết nội sọ tự phát.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu thực nghiệm, được thực hiện từ 10/2022 đến 09/2023 tại Trung tâm Nghiên cứu Y Sinh, Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch.

Đối tượng nghiên cứu: Bệnh nhân xuất huyết nội sọ tự phát, được chẩn đoán theo Hướng dẫn trong kiểm soát xuất huyết nội sọ tự phát của Hiệp hội Tim mạch Hoa Kỳ và Hiệp hội Đột quy Hoa Kỳ [7], khám và điều trị tại bệnh viện Nguyễn Tri Phương từ tháng 10/2022 đến tháng 06/2023, có kết quả chụp cộng hưởng từ hoặc cắt lớp điện toán sọ não lúc nhập viện, và đồng ý tham gia nghiên cứu. Tiêu chuẩn loại trừ: Mẫu máu bị đông hoặc không thể thu thập được DNA do sai sót kỹ thuật nhưng không thể liên hệ xin lại mẫu từ đối tượng tham gia nghiên cứu. Thu thập mẫu thuận tiện.

Các bước tiến hành:

1. Máu tĩnh mạch của bệnh nhân được chống đông bằng EDTA. Sử dụng TopPure Blood DNA Extraction Kit (ABT, Việt Nam) ly trích DNA bộ gen. Yêu cầu đạt độ tinh sạch (OD260/280) từ 1,8 – 2,0.

2. Trích xuất đoạn gen có trình tự quan tâm trên bộ gen người từ cơ sở dữ liệu của Trung tâm Thông tin Công nghệ Sinh học Quốc gia (NCBI, phiên bản GRCh38 [8]), từ đó, thiết kế 3 đoạn mồi (1 đoạn mồi xuôi đặc hiệu alen T, 1 đoạn mồi xuôi đặc hiệu alen C và 1 đoạn mồi ngược dùng chung) giúp khuếch đại vùng gen chứa biến thể rs216321 với chiều dài đoạn khuếch đại trong khoảng 50 – 150 bp.

3. Đánh giá độ đặc hiệu của đoạn mồi bằng phản ứng real-time PCR, sử dụng bộ sinh phẩm SensiFAST SYBR (Bioline) và điện di gel Labchip. Đoạn mồi được xem là đặc hiệu khi hình ảnh điện di chỉ có 1 sản phẩm có kích thước tương đương với kích thước dự kiến, chứng nước âm,

thể hiện 1 sản phẩm PCR duy nhất. Lựa chọn cặp mồi cho kết quả tối ưu nhất.

Thành phần của phản ứng real-time PCR: Master Mix SensiFAST SYBR 5 µL, nồng độ cặp mồi VWFF và VWFR là 0,4 µM, lượng DNA bộ gen là 50 ng; ddH₂O đến đủ 10 µL phản ứng.

Chương trình nhiệt: 95°C trong 2 phút; 95°C trong 5 giây; 72°C trong 15 giây (lặp lại 35 chu kỳ); giữ ở 4°C.

4. Tối ưu hóa nồng độ đoạn mồi bằng cách thực hiện real-time PCR DNA với các nồng độ 250 nM và 500 nM trên 2,5 ng DNA bộ gen có kiểu gen TT và CC của biến thể. Thực hiện chạy 3 lần/mề với 3 mề độc lập. Nồng độ được chọn là: mức nồng độ đạt giá trị Ct trong khoảng 28 ± 2; CV dưới 10% [9].

5. Xác định kiểu gen của biến thể bằng việc thực hiện lần lượt 2 phản ứng real-time PCR với nồng độ đã được tối ưu, cặp mồi đã được lựa chọn, cùng lúc với 2 cặp đoạn mồi đặc hiệu alen T và alen C. Mỗi mẫu chạy lặp 3 lần/mề và 3 mề độc lập. CV% nhỏ hơn 10% xem như đạt. Dự đoán kiểu gen bằng ΔCt.

Quy ước: x là Ct của phản ứng qPCR1 với cặp mồi đặc hiệu cho alen C; y là Ct của phản ứng qPCR2 với cặp mồi đặc hiệu cho alen T. Xác định đặc điểm chẩn đoán dựa trên công thức: ΔCt = x – y

Dự đoán: |ΔCt| < 3: mẫu DNA có kiểu gen dị hợp tử CT; |ΔCt| > 3: mẫu DNA có kiểu gen đồng hợp tử CC hoặc TT; x – y < 0: mẫu DNA có kiểu gen CC; x – y > 0: mẫu DNA có kiểu gen TT.

6. Thẩm định phương pháp real-time PCR bằng việc thực hiện phản ứng real-time PCR đã tối ưu với 22 mẫu có kết quả giải trình tự Sanger được sắp xếp ngẫu nhiên tạo thành bộ giả lập. Đánh giá phương pháp bằng độ nhảy (SE), độ đặc hiệu (SP), độ xác thực (AC). Kỹ thuật được xem là đạt khi có AC ≥ 95%; SE ≥ 95%; SP ≥ 95%.

Số liệu được xử lý và phân tích số liệu bằng phần mềm Microsoft Excel. Nghiên cứu được chấp thuận bởi Hội đồng đạo đức của Đại học Y Dược TP.HCM số 788/HĐĐĐ-ĐHYD ngày 26 tháng 10 năm 2022.

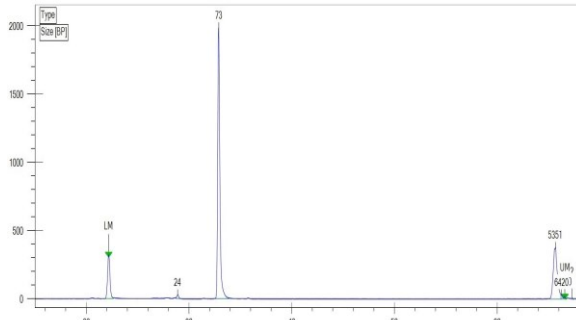
III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Thiết kế các đoạn mồi và xác định nồng độ mồi tối ưu

Bảng 9. Trình tự và đặc điểm bộ 3 đoạn mồi được lựa chọn

Tên	Trình tự (5' – 3')	Độ dài (nu)	Nhiệt độ nóng chảy (Tm)	GC%	Độ dài khuếch đại (bp)
Mồi xuôi đặc hiệu alen T	TGCAGTTCCACTTCCGGTCCT	21	63,73	57,14	64

Môi người	GCCCAACTTGTCATCTCTGCC	21	61,55	57,14	
Môi xuôi đặc hiệu alen C	TGCAGTTCCAATTCCGGTCCC	21	64,65	61,90	



Hình 3. Kết quả điện di sản phẩm real-time PCR trên hệ thống gel Labchip GX Touch 24

Nhận xét: Kết quả điện di của cả 2 mẫu DNA thử nghiệm cho thấy phản ứng nhận dạng đúng 2 điểm đánh dấu marker gồm điểm đánh dấu dưới (Lower Marker, LM) và điểm đánh dấu trên (Upper Marker, UM). Kết quả ghi nhận một đỉnh cường độ sáng phân tách rõ, tương ứng với kích thước là 73 bp, đường cơ sở phẳng ít tín hiệu nhiễu. Vì đặc tính kỹ thuật điện di mao quản, kích thước đoạn DNA ghi nhận được phép sai số nằm trong khoảng $\pm 10\%$ nên kết quả có thể sai lệch trong khoảng 60,4 – 73,2 bp, phù hợp với chiều dài đoạn DNA đã thiết kế là 64 bp, thỏa các tiêu chí đặt ra.

Bảng 10. Kết quả thử nghiệm của các nồng độ đoạn môi

Nồng độ	Mẻ	Kiểu gen CC		Kiểu gen TT	
500 nM	1	Ct _{mean} 25,3; CV 0,1%	Ct _{mean} 25,2 CV 1%	Ct _{mean} 25,8; CV 1%	Ct _{mean} = 25,7 CV% = 1%
	2	Ct _{mean} 25,4; CV 1%		Ct _{mean} 25,5; CV 1%	
	3	Ct _{mean} 25,0; CV 1%		Ct _{mean} 25,7; CV 1%	
250 nM	1	Ct _{mean} 26,6; CV 1%	Ct _{mean} 26,7 CV 1%	Ct _{mean} 26,8; CV 1%	Ct _{mean} 27,1 CV 1%
	2	Ct _{mean} 26,6; CV 1%		Ct _{mean} 27,0; CV 0,4%	
	3	Ct _{mean} 26,8; CV 0,4%		Ct _{mean} 27,5; CV 1%	

Nhận xét: Tất cả các mẻ thí nghiệm đều có CV% dưới 10%. Ct trung bình (Ct_{mean}) cả 3 mẻ của từng mức nồng độ cũng dưới 10%. Xét ở góc độ kỹ thuật, các phản ứng qPCR đều có độ lặp rất tốt. Theo tiêu chí đặt ra, chọn mức nồng độ 250 nM để thực hiện các bước tiếp theo.

Kết quả xác định kiểu gen

Bảng 11. Kết quả các phản ứng real-time PCR xác định kiểu gen chẩn đoán rs216321

Mẻ	Kiểu gen plasmid đã biết	Cặp môi đặc hiệu alen C (Ct _{mean} = x)	Cặp môi đặc hiệu alen T (Ct _{mean} = y)	ΔCt_{mean} ($\Delta Ct_{mean} = x - y$)	Kiểu gen xác định được dựa vào ΔCt_{mean}
Mẻ 1	CC	Ct _{mean} 26,0; CV 1%	Ct _{mean} 30,7; CV 2%	4,7	Đồng hợp tử CC
	CT	Ct _{mean} 26,8; CV 1%	Ct _{mean} 27,0; CV 2%	0,2	Dị hợp tử CT
	TT	Không tín hiệu	Ct _{mean} 25,7; CV 1%	>> 0	Đồng hợp tử TT
Mẻ 2	CC	Ct _{mean} 25,4; CV 2%	Ct _{mean} 30,5; CV 2%	5,1	Đồng hợp tử CC
	CT	Ct _{mean} 27,0; CV 1%	Ct _{mean} 27,1; CV 1%	0,1	Dị hợp tử CT
	TT	Không tín hiệu	Ct _{mean} 26,1; CV 2%	>> 0	Đồng hợp tử TT
Mẻ 3	CC	Ct _{mean} 25,1; CV 1%	Ct _{mean} 31,1; CV 3%	6,0	Đồng hợp tử CC
	CT	Ct _{mean} 26,7; CV 1%	Ct _{mean} 27,1; CV 2%	0,4	Dị hợp tử CT
	TT	Không tín hiệu	Ct _{mean} 25,8; CV 2%	>> 0	Đồng hợp tử TT

Ghi chú: Khi phản ứng không có tín hiệu, Ct có thể xem như rất lớn (tiến về $+\infty$).

Nhận xét: CV% từng mẻ và CV% cả 3 mẻ đều < 10% chứng tỏ các phản ứng có độ lặp tốt. Cặp môi đặc hiệu alen C không cho tín hiệu với mẫu DNA có kiểu gen TT. Cặp môi đặc hiệu alen T vẫn cho tín hiệu với mẫu DNA có kiểu gen CC với Ct_{mean} các mẻ đều lớn hơn 30. Kết quả phù hợp với dự đoán của phương pháp.

Thẩm định phương pháp real-time PCR SYBR. Khảo sát 22 mẫu DNA bộ gen đã được

giải trình tự Sanger bằng phương pháp real-time PCR SYBR vừa xây dựng, kết quả đạt được trong bảng 3.

Bảng 12. Kết quả xác định kiểu gen của bộ mẫu

Kiểu gen xác định bằng real-time	Kiểu gen TT, TC	Kiểu gen đã giải trình tự Sanger	
		Kiểu gen TT, TC	Kiểu gen CC
		8	0

PCR SYBR	Kiểu gen CC	0	14
-----------------	-------------	---	----

Nhận xét: Kết quả độ nhạy, độ đặc hiệu, độ xác thực của phương pháp đều đạt 100%, thỏa tiêu chí đánh giá, đạt chất lượng để xác định kiểu gen cho các mẫu tiếp theo.

IV. BÀN LUẬN

Việc điện di bằng LabChip có thể phân biệt những đoạn sản phẩm cách nhau khoảng 50 nucleotit, đây là một tính năng vượt trội so với phương pháp điện di truyền thống. Ngoài ra, phương pháp điện di truyền thống chỉ mang tính định tính và việc đánh giá kết quả bằng mắt thường cũng bị ảnh hưởng bởi yếu tố chủ quan của người đọc. Có thể thấy điện di bằng LabChip vừa thể hiện được lượng sản phẩm, vừa thể hiện được kích thước sản phẩm, điều đó giúp cho việc so sánh, kiểm tra trở nên dễ dàng. Kết quả điện di LabChip cho thấy chỉ có 1 đỉnh sản phẩm duy nhất với kích thước 73 bp, phù hợp với kích thước dự kiến khi thiết kế đoạn mỗi là 64 bp. Đề tài nghiên cứu còn thực hiện trên DNA plasmid nên bước kiểm tra độ đặc hiệu đoạn mỗi là một bước rất quan trọng, là tiền đề để triển khai các đề tài nghiên cứu khác sau này, tránh hiện tượng bắt cặp không đặc hiệu trên các vùng khác nếu thực hiện DNA bộ gen.

Việc tối ưu nồng độ đoạn mỗi dựa trên tiêu chí: nồng độ không được quá cao dẫn tới dư thừa nguyên liệu phản ứng dễ hình thành primer-dimer, giá trị Ct trong khoảng 28 ± 2 và có thể phân biệt tốt các alen. Theo khuyến cáo của nhà sản xuất, nồng độ đoạn mỗi có thể tối ưu từ 100 – 1000 nM, nên nghiên cứu tiến hành giảm nồng độ xuống để tối ưu hóa phản ứng real-time PCR. Nhóm nghiên cứu chọn mức nồng độ để tối ưu là 500 nM và 250 nM, lần lượt chạy đều cho các kết quả có độ lặp lại CV% dưới 10%. Khi thay đổi nồng độ đoạn mỗi nhưng vẫn giữ lượng DNA đầu vào ở mức 2,5 ng nên nếu lượng DNA nhiều có thể ảnh hưởng đến độ đặc hiệu của phản ứng PCR hoặc nếu lượng DNA quá ít dẫn đến phản ứng PCR không ổn định gây sai lệch kết quả. Vì vậy, giá trị Ct của phản ứng real-time PCR cần nằm trong khoảng 25–30 nên nhóm nghiên cứu chọn khoảng giá trị Ct từ 26 – 30 làm tiêu chí đánh giá. Mặc dù các mức nồng độ đều có thể phát hiện biến thể nhưng để đảm bảo kết quả tốt nhất nên nhóm nghiên cứu chọn mức nồng độ 250 nM có giá trị Ct trong khoảng từ 26–30 để tiếp tục thực hiện các bước tiếp theo.

Kết quả thu được phù hợp với dự đoán từ trước, thỏa yêu cầu về $|\Delta Ct|$ giữa cặp mỗi đặc

hiệu ở các gen đồng hợp tử là trên 3. Điều này hoàn toàn hợp lý vì khi đoạn mỗi đặc hiệu alen C bắt cặp đúng với alen C sẽ cho phản ứng khuếch đại đặc hiệu, hiệu suất phản ứng tốt, giá trị Ct thấp và ngược lại. Điều này xảy ra tương tự với cặp mỗi đặc hiệu alen T. Đối với kiểu gen dị hợp tử, kết quả real-time PCR cho kết quả Ct ở cả hai đoạn mỗi đặc hiệu cho alen C và alen T tương đồng nhau vì kiểu gen dị hợp tử CT mang cả hai alen C và T nên khi phản ứng với hai đoạn mỗi đặc hiệu cho alen C và T đều cho phản ứng khuếch đại như nhau. Do đó, giá trị Ct khá tương đồng nhau dẫn tới kết quả $|\Delta Ct|$ đều thấp và đúng với dự đoán là nhỏ hơn 3, tuy nhiên hiệu suất phản ứng sẽ giảm nhẹ so với sự bắt cặp đặc hiệu giữa đoạn mỗi và kiểu gen đồng hợp tử tương ứng.

Việc sử dụng những mẫu đã được giải trình tự Sanger làm thành bộ giả lập và dùng chính công cụ vừa xây dựng để chạy lại những mẫu này một cách độc lập sẽ giúp đánh giá công cụ khách quan, chính xác. Việc đánh giá này có nhiều ưu điểm, giúp hạn chế việc phụ thuộc vào phương pháp được xem là "tiêu chuẩn vàng" trong việc xác định kiểu gen là giải trình tự Sanger. Ngoài ra với việc có những thông số độ nhạy, độ xác thực, độ đặc hiệu sẽ tạo được những dữ liệu đáng tin cậy để có thể dễ dàng phân tích khi áp dụng chạy trên số lượng mẫu lớn. Với việc không phụ thuộc quá nhiều vào giải trình tự Sanger còn giúp tiết kiệm về mặt kinh tế và thời gian khi chạy trên một cỡ mẫu lớn. Kết quả độ xác thực, độ nhạy, độ đặc hiệu của nghiên cứu này là 100% cho thấy sự tương đồng về kết quả kiểu gen của hai phương pháp real-time PCR và Sanger là rất tốt. Từ đó có thể sử dụng phương pháp real-time PCR để chẩn đoán biến thể rs216321 trên cỡ mẫu lớn mà không cần phải kiểm tra lại bằng phương pháp giải trình tự Sanger.

Từ những kết quả thu được từ đề án nhóm nghiên cứu sẽ tiếp tục tìm hiểu về biến thể rs216321 trên gen VWF với một cỡ mẫu lớn hơn, mang tính đại diện hơn để có thể hiểu hết về khả năng làm lan rộng ổ xuất huyết ở những bệnh nhân xuất huyết nội sọ tự phát. Qua đó sẽ có được nguồn dữ liệu, thông tin về biến thể trên quần thể người Việt Nam.

V. KẾT LUẬN

Đã xây dựng và tối ưu quy trình real-time PCR để xác định biến thể đa hình đơn nucleotide rs216321 trên gen VWF. Quy trình áp dụng trên người bệnh, làm cơ sở để khảo sát cỡ mẫu lớn

mang tính đại diện. Từ đó tạo nên nguồn dữ liệu, thông tin về biến thể trên quần thể người Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Dekker SE, Hoffer SA, Selman W and Bambakidis NC. eds.** Principles of neurological surgery. Elsevier;2018: 334-342. e2.
2. **Scotland G, Biobank MGB, Biobank U, et al.** Global Biobank Meta-analysis Initiative: Powering genetic discovery across human disease. Cell Genomics. 2022;9.
3. **Alzahrani FM, Aldossary N and Hassan FM.** Phenotypic and Genotypic Characterization of von Willebrand Factor Gene (Exon 18 and 20) in Saudi Healthy Individuals. Med Arch. 7. 2020; 74 (5):337-341. 10.5455/medarh.2020.74.337-341.
4. **Elek Z, Losoncz E, Maricza K, et al.** Missense Variants of von Willebrand Factor in the Background of COVID-19 Associated Coagulopathy. Genes (Basel). 2023; 14(3). 10.3390/genes14030617.
5. **Guo H, You M, Wu J, et al.** Genetics of spontaneous intracerebral hemorrhage: risk and outcome. Front Neurosci. 2022; 16:455.
6. **Han J-H, Lee J-M, Koh E-J and Choi H-YJJKNS.** The spot sign predicts hematoma expansion, outcome, and mortality in patients with primary intracerebral hemorrhage. J Korean Neurosurg Soc. 2014; 56(4):303-309.
7. **Hemphill Iii JC, Greenberg SM, Anderson CS, et al.** Guidelines for the management of spontaneous intracerebral hemorrhage: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. Stroke. 2015; 46(7):2032-2060.
8. **National Library of Medicine (NIH).** Primer-BLAST. October 5th, 2023. October 5th, 2023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>.
9. **ThermoFisher Scientific. Precision in qPCR.** October 5th, 2023. October 5th, 2023. <https://www.thermofisher.com/vn/en/home/life-science/pcr/real-time-pcr/real-time-pcr-learning-center/gene-expression-analysis-real-time-pcr-information/precision-qpcr.html>.

ĐẶC ĐIỂM SIÊU ÂM DOPPLER NĂNG LƯỢNG KHỚP NGÓN XA BÀN TAY Ở BỆNH NHÂN VIÊM KHỚP VẢY NẾN

Vũ Văn Minh¹, Nguyễn Vĩnh Ngọc¹, Nguyễn Thị Như Hoa²

TÓM TẮT

Mục tiêu: 1. Mô tả đặc điểm tổn thương khớp ngón xa bàn tay trên siêu âm và khám lâm sàng ở bệnh nhân viêm khớp vảy nến (VKVN). 2. Tìm hiểu mối liên quan giữa tổn thương khớp ngón xa bệnh nhân VKVN trên siêu âm với mức độ hoạt động bệnh. **Phương pháp:** Nghiên cứu cắt ngang mô tả trên 41 bệnh nhân được chẩn đoán VKVN theo tiêu chuẩn CASPAR 2006. Thời gian nghiên cứu từ tháng 10 năm 2022 đến tháng 8 năm 2023 tại Trung tâm Cơ xương khớp, bệnh viện Bạch Mai. **Kết quả:** Tỷ lệ bệnh nhân có viêm khớp ngón xa trên lâm sàng là 12,2%. 100% bệnh nhân có ít nhất một khớp ngón xa bị viêm phát hiện trên siêu âm và 27,6% bệnh nhân có tổn thương phần mềm quanh khớp. Tỷ lệ khớp có dày màng hoạt dịch: 55,9%; tăng tín hiệu mạch Doppler: 52,5%. Tỷ lệ các tổn thương ngoài khớp: viêm gân duỗi: 6,1%; đứt gân duỗi: 14,4%; viêm gân gấp: 7,1%; tổn thương khác: 32,8%. Có mối tương quan thuận giữa điểm DAPSA với chỉ số mức độ tổn thương trên siêu âm: GSJC (hệ số tương quan R=0,55, p < 0,001), GSJS (R=0,62, p < 0,001), PDJC (R=0,68, p < 0,001), PDJS (R=0,78, p < 0,001). **Kết luận:** Siêu âm có thể

phát hiện tổn thương khớp ngón xa bàn tay nhiều hơn so với khám lâm sàng. Mức độ tổn thương trên siêu âm có tương quan chặt chẽ với mức độ hoạt động bệnh VKVN. **Từ khóa:** viêm khớp vảy nến, siêu âm Doppler năng lượng, khớp ngón xa bàn tay

SUMMARY

ULTRASOUND AND POWER DOPPLER EVALUATION OF THE DISTAL INTERPHALANGEAL JOINTS IN PATIENTS WITH PSORIATIC ARTHRITIS

Objective: 1. To evaluate the frequency of the various lesions in distal interphalangeal joints of patients with psoriatic arthritis by clinical and ultrasound assessment. 2. To determine the correlation between grayscale and Power Doppler ultrasonography score with disease activity score. **Methods:** This cross-sectional study was performed on 41 patients, who were diagnosed with psoriatic arthritis by CASPAR 2006 criteria. The study duration lasts from October 2022 to August 2023 at the Rheumatology Center, Bach Mai Hospital. **Results:** Ultrasound detected more joint lesions than clinical examination. The proportion of patients with clinical distal interphalangeal arthritis was 12,2%. 100% of patients had at least one distal interphalangeal arthritis by ultrasound, and 27,6% of patients had periarticular soft tissue lesions. The frequency of various ultrasound abnormalities was as follows: Synovial hypertrophy was seen in 55,9%, Power Doppler abnormality suggesting hypervascularity in 52,5%. The periarticular lesion frequency: extensor

¹Đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện Bạch Mai

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Vĩnh Ngọc

Email: vinhngoc@hmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 2.10.2023

Ngày phản biện khoa học: 10.11.2023

Ngày duyệt bài: 13.12.2023