

# XÂY DỰNG QUY TRÌNH CHẨN ĐOÁN BIẾN THỂ ĐA HÌNH ĐƠN NUCLEOTIT RS1800629 TRÊN VÙNG KHỞI ĐỘNG CỦA GEN TNF- $\alpha$ BẰNG KỸ THUẬT GIẢI TRÌNH TỰ SANGER VÀ PCR-RFLP

Nguyễn Hữu Ngọc Tuấn<sup>1</sup>, Nguyễn Hưng Thịnh<sup>1</sup>, Hồ Thị Hồng Thắm<sup>1</sup>

## TÓM TẮT

**Giới thiệu:** Biến thể đa hình đơn nucleotit rs1800629 tại vị trí -308 trên vùng khởi động gen TNF- $\alpha$  ảnh hưởng trực tiếp đến ái lực liên kết với các yếu tố phiên mã và làm thay đổi sự biểu hiện của gen TNF- $\alpha$ . Ngoài kỹ thuật chuẩn mực để khảo sát là giải trình tự Sanger, kỹ thuật PCR-RFLP được phát triển giúp xác định biến thể bằng các trang thiết bị và hoá chất cơ bản, đem lại hiệu quả với độ tin cậy cao. Việc xác định thông tin về rs1800629 với chi phí tối thiểu là tiền đề thuận lợi cho các nghiên cứu về ảnh hưởng của biến thể này lên nhiều tình trạng sinh, bệnh lý quan trọng. **Mục tiêu:** Xây dựng bộ công cụ xác định biến thể rs1800629 trên vùng khởi động của gen TNF- $\alpha$  bằng kỹ thuật giải trình tự Sanger và PCR-RFLP. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Xây dựng quy trình giải trình tự Sanger bằng cặp đoạn mỗi tự thiết kế để khảo sát đoạn DNA dài 400-500 bp có chứa rs1800629. Tạo các dòng DNA plasmid mang lần lượt biến thể G và biến thể A của rs1800629 bằng phương pháp TA cloning. Tối ưu hoá điều kiện phản ứng PCR-RFLP sử dụng men cắt NcoI và áp dụng khảo sát rs1800629 trên 5 mẫu DNA của người tình nguyện đã biết trước kiểu gen. **Kết quả:** đã xây dựng thành công quy trình giải trình tự Sanger khảo sát biến thể rs1800629 bằng cặp đoạn mỗi tự thiết kế; tạo 2 DNA plasmid mang alen G (wild-type) và alen A (biến thể) của rs1800629 để làm mẫu chứng; tối ưu hóa quy trình PCR-RFLP xác định rs1800629 bao gồm cắt sản phẩm PCR với enzyme NcoI và điều kiện điện di phù hợp. Toàn bộ 5 mẫu DNA của người tình nguyện có các kiểu di truyền GG (3 người), GA (1 người) và AA (1 người) được chẩn đoán đúng bằng phương pháp PCR-RFLP. **Kết luận:** Bộ công cụ bao gồm quy trình Sanger, quy trình PCR-RFLP và các chứng ở dạng plasmid đã được hoàn thiện để xác định biến thể TNF- $\alpha$ -308G/A (rs1800629) trên vùng khởi động gen TNF- $\alpha$ . **Từ khóa:** TNF- $\alpha$ , rs1800629, TNF- $\alpha$ -308G/A, PCR-RFLP, SNP.

## SUMMARY

### ESTABLISHING THE PROCEDURE FOR DETERMINING rs1800629 VARIANT AT TNF- $\alpha$ GENE PROMOTER REGION BY PCR-RFLP

**Introduction:** A single nucleotide polymorphism (SNP) at promoter region of TNF- $\alpha$  gene, TNF- $\alpha$ -308G/A (rs1800629), which directly affects binding

affinity of transcription factors to promoter region, leads to alter TNF- $\alpha$  gene expression and increase TNF- $\alpha$  level. In addition to the standard technique for SNPs detection, Sanger sequencing, the polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method is developed to determine rs1800629 with basic laboratory equipments, without requiring expensive chemicals and, additionally, provides highly reliable results. Determining rs1800629 at affordable cost is a favorable premise for researching on the effects of rs1800629 on many important pathogenetic and physiological characteristics. **Objective:** Establishing a molecular procedure to identify the TNF- $\alpha$ -308G/A (rs1800629) variant by Sanger sequencing and PCR-RFLP method. **Method:** Constructing Sanger sequencing procedure with self-designed primer pairs to determine a 400-500 bp DNA amplicon containing rs1800629. Cloning the control recombinant DNA plasmids containing respectively G allele and A allele of rs1800629 by using TA cloning method. Optimizing the conditions of PCR-RFLP protocol with NcoI restriction enzyme and applying rs1800629 detection procedure on 5 known genotype DNA samples of volunteers. **Result:** (1) Successfully constructed a Sanger sequencing process to detect rs1800629 variant using self-designed primer pairs; (2) created 2 DNA plasmids containing the G allele (wild-type) and A allele (variant) of the rs1800629 as genotype control samples, and (3) optimized the PCR-RFLP procedure to determine the rs1800629 variant including cleavage of PCR product with NcoI enzyme, and electrophoresis. All 5 DNA samples of volunteers with genotypes GG (3 samples), GA (1 sample) and AA (1 sample) were correctly diagnosed by PCR-RFLP method. **Conclusion:** The kit including Sanger sequencing, PCR-RFLP method and DNA plasmid controls was completed to determine TNF- $\alpha$ -308G/A (rs1800629) variant at promoter region of TNF- $\alpha$  gene. **Keywords:** TNF- $\alpha$ , rs1800629, TNF- $\alpha$ -308G/A, PCR-RFLP, SNP.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

TNF- $\alpha$  đóng vai trò quan trọng trong hệ miễn dịch của cơ thể. Tình trạng tăng quá mức nồng độ TNF- $\alpha$  thông qua tăng biểu hiện gen TNF- $\alpha$  dẫn đến rối loạn hệ thống miễn dịch, làm kéo dài và trầm trọng tình trạng viêm.

Tính đa hình đơn nucleotit rs1800629 (G>A) nằm ở vị trí -308 của gen TNF- $\alpha$ , liên quan đến sự tăng lượng TNF- $\alpha$  và tăng nguy cơ mắc một số vấn đề sức khỏe đã được quan sát thấy ở người<sup>1</sup>. Phân tích tổng hợp các nghiên cứu ở người châu Á cho thấy mối liên quan của alen A

<sup>1</sup>Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch  
Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Hữu Ngọc Tuấn  
Email: nhntuan@pnt.edu.vn  
Ngày nhận bài: 23.11.2023  
Ngày phản biện khoa học: 25.12.2023  
Ngày duyệt bài: 25.01.2024

với nguy cơ một số bệnh như COPD (OR = 1,35, 95% CI: 1,04-1,77, p = 0,02)<sup>2</sup>, chứng đau nửa đầu (OR: 1.85, 95% C.I. [1.0927; 3.1580]<sup>3</sup>, nguy cơ bạch biến (p = 0.04), bạch biến cục bộ (p = 0.01), mụn trứng cá (OR = 1.93, 95% CI 1.15-3.24)<sup>4</sup> và bệnh Alzheimer's (OR = 1.743, 95 % CI 1.256-2.418, p = 0.001)<sup>5</sup>.

Tại Việt Nam, nghiên cứu về đặc điểm biến thể rs1800629 vẫn còn hạn chế, trong đó, việc thiếu công cụ phân tử giúp chẩn đoán xác định biến thể là nổi bật. Việc xây dựng quy trình kỹ thuật phân tử để tiếp cận, tiết kiệm chi phí và đảm bảo được độ tin cậy cao là cần thiết để thúc đẩy các nghiên cứu về đặc điểm di truyền này trên quần thể người Việt.

Đến nay, nhiều phương pháp dựa trên kỹ thuật PCR được sử dụng để xác định biến thể di truyền quan tâm. Giải trình tự Sanger và đặc biệt PCR-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) là những kỹ thuật đơn giản, đặc hiệu, hiệu quả kinh tế và được ứng dụng rộng rãi trong các nghiên cứu về mô tả đặc điểm các biến thể di truyền trên thế giới<sup>5</sup>. Nghiên cứu này nhằm mô tả quy trình thực hiện hai kỹ thuật trên để chẩn đoán rs1800629 do nhóm nghiên cứu xây dựng và tối ưu hóa.

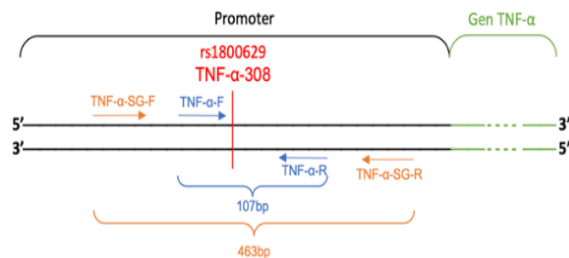
**II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

Nghiên cứu thực nghiệm, tại phòng thí nghiệm Trung tâm Nghiên cứu Y sinh, Trường ĐHYK Phạm Ngọc Thạch, thực hiện trên các mẫu DNA bộ gen của nhân viên tình nguyện của Trường, qua các bước sau:

(1) Xây dựng quy trình giải trình tự Sanger xác định biến thể quan tâm: Thiết kế đoạn mồi bằng Primer-BLAST (NCBI) và đánh giá độ đặc hiệu bằng Q5 High-Fidelity 2X Master Mix (NEB) tại mức nhiệt độ bắt cặp ước tính (NEB Tm Calculator). Giải trình tự Sanger 05 người tình nguyện (BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit, ABI 3500 genetic analyzer, Applied Biosystems), với cặp đoạn mồi tự thiết kế bằng Primer-BLAST (NCBI). Quy trình tuân thủ hướng dẫn nhà sản xuất. Sử dụng phần mềm Sequencing Analysis Software v6.0 và Variant Reporter Software v2.0 (Applied Biosystems) để đánh giá chỉ số QVB (Quality value of Base - chỉ số ước tính độ chính xác của mỗi nucleotit base được gọi ra) và LOR (Length of Read - khoảng chiều dài dài nhất đọc được không bị gián đoạn của nucleotit). Kết quả được xem là đạt chất lượng khi tỉ lệ LOR so với chiều dài thiết kế  $\geq 90\%$  và biến thể nằm trong vùng có QVB  $\geq 20$ .

(2) Xây dựng DNA plasmid chứng: Sử dụng mẫu DNA tình nguyện có kiểu gen dị hợp tử (GA) để xây dựng bộ DNA plasmid chứng mang alen A và alen G (TOPO TA cloning kit, Invitrogen). Quy trình tuân thủ hướng dẫn nhà sản xuất. Sàng lọc khuẩn mang đoạn DNA chèn bằng phương pháp colony PCR. Kết quả tạo dòng DNA plasmid chứng được khẳng định bằng giải trình tự Sanger đã xây dựng.

(3) Tối ưu hoá điều kiện phản ứng PCR-RFLP: Thực hiện phản ứng PCR với bộ DNA plasmid chứng mang alen A và alen G đã xây dựng bằng cặp đoạn mồi được công bố bởi Corrêa và cộng sự<sup>6</sup> (**Bảng 1**). Thành phần phản ứng: Mytaq Red Mix 1X (Bioline); nồng độ mồi xuôi và ngược là 10  $\mu\text{M}$ , lượng DNA plasmid chứng khoảng 50 ng; ddH<sub>2</sub>O đến đủ 20  $\mu\text{L}$  phản ứng. Chương trình nhiệt: 94°C trong 2 phút; 94°C trong 15 giây, 58°C trong 15 giây, 72°C trong 10 giây (35 chu kỳ); 72°C trong 1 phút; giữ ở 4°C. Đánh giá sản phẩm PCR bằng điện di gel agarose 2,5%; 100V; 40 phút.



**Hình 1. Mô phỏng vị trí rs1800629, cặp đoạn mồi cho kỹ thuật Sanger, cặp đoạn mồi cho kỹ thuật PCR-RFLP trên vùng khởi động (promoter) gen TNF- $\alpha$**

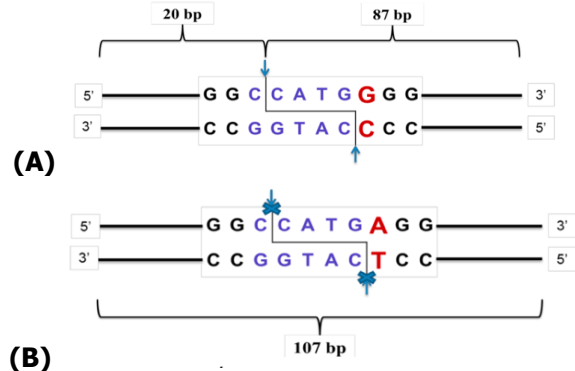
**Bảng 1. Thông tin đoạn mồi phản ứng PCR-RFLP (Corrêa và cộng sự)**

Đoạn mồi	Trình tự (5'-3')	Tm (°C)	Độ dài (nucleotit)	GC (%)	Sản phẩm (bp)
TNF- $\alpha$ -F	AGGCAATAGGTTT TGAGGGC*CAT	59,1	23	47,8	107
TNF- $\alpha$ -R	TCCTCCCTGCTCC GATTCCG	61,3	20	65	

\*: Trình tự nucleotit tạo ra điểm nhận biết của enzyme cắt giới hạn

Thực hiện phản ứng cắt sản phẩm PCR với enzyme NcoI. Thời gian ủ lần lượt trong 60 phút, 90 phút và 120 phút ở 37°C, bắt hoạt enzyme ở 80°C 10 phút. Thành phần phản ứng: CutSmart 10X 3  $\mu\text{L}$ ; Enzym NcoI (20.000 Units/mL) 1  $\mu\text{L}$ ; sản phẩm PCR (khoảng 15 ng/ $\mu\text{L}$ ) 15  $\mu\text{L}$ ; nước tinh sạch không có nuclease: 11  $\mu\text{L}$ . So sánh kết quả phân tích sản phẩm PCR-RFLP bằng điện di

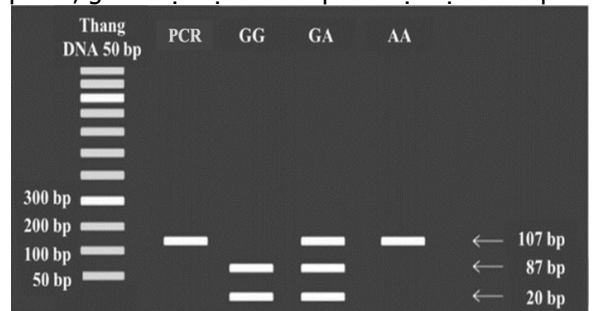
gel agarose 2,5%; 100V; 40 phút và điện di mao quản tự động LabChip GX touch nucleic acid analyzer (PerkinElmer). Phản ứng cắt thành công khi sản phẩm PCR khuếch đại từ plasmid alen G được phân cắt thành hai sản phẩm 87 bp và 20 bp.



**Hình 2. Trình tự cắt của enzyme NcoI khi có alen G (wild-type) (A) và khi có alen A (biến thể rs1800629) (B)**

(4) Áp dụng quy trình PCR-RFLP đã tối ưu để xác định kiểu gen biến thể rs1800629 trên 05 mẫu người tình nguyện đã biết trước kiểu gen bằng kỹ thuật giải trình tự Sanger. Dự kiến kết quả điện di sản phẩm PCR-RFLP của ba loại kiểu gen của biến thể quan tâm được mô tả như **Hình 3**. Cụ thể:

- + Sản phẩm PCR kiểu gen AA không bị phân cắt, kết quả điện di là một vạch có kích thước tương đương với sản phẩm PCR ban đầu (107 bp).
- + Sản phẩm PCR kiểu gen GG bị phân cắt hoàn toàn, kết quả điện di gồm một vạch có kích thước 87 bp. Đoạn 20 bp rất ngắn nên có thể không ghi nhận trên gel agarose 2,5% sau điện di.
- + Sản phẩm PCR kiểu gen GA bị phân cắt không hoàn toàn, kết quả điện di gồm hai vạch sản phẩm, gồm một vạch 107 bp và một vạch 87 bp.



**Hình 3. Mô phỏng kết quả điện di gel agarose của ba kiểu gen biến thể rs1800629 gen TNF-α**

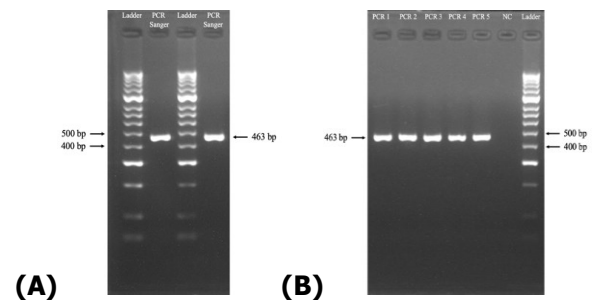
Nghiên cứu được chấp thuận bởi Hội đồng đạo đức của Đại học Y Dược TP.HCM số 788/HĐĐĐ-ĐHYD ngày 24 tháng 10 năm 2022.

**III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU**

**3.1. Quy trình kỹ thuật giải trình tự Sanger khảo sát biến thể rs1800629 gen TNF-α.** Cặp đoạn mồi cho giải trình tự Sanger có đặc điểm kỹ thuật như **bảng 2**. Nhiệt độ bắt cặp ước tính là 61°C. Kết quả điện di (**hình 4A**) chỉ xuất hiện một sản phẩm duy nhất, kích thước khoảng 500 bp tương đương sản phẩm dự kiến là 463 bp. Như vậy đoạn mồi thiết kế là đặc hiệu ở nhiệt độ bắt cặp 61°C khi sử dụng sinh phẩm Q5 High-Fidelity 2X Master Mix (NEB, Hoa Kỳ). Kết quả khuếch đại vùng gen TNF-α xác định kiểu gen biến thể rs1800629 của 5 mẫu người tình nguyện được thể hiện ở **hình 4B**.

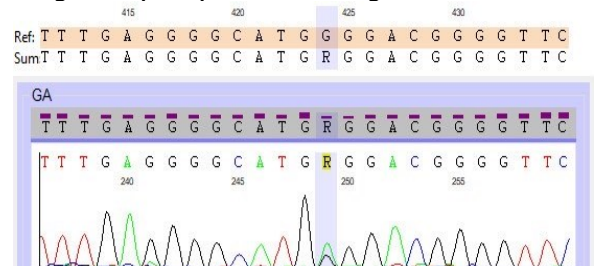
**Bảng 2. Thông tin đoạn mồi giải trình tự Sanger vùng gen TNF-α biến thể quan tâm**

Phản ứng	Đoạn mồi	Trình tự (5'-3')	Độ dài (nucl eotit)	GC (%)	Sản phẩm (bp)
Giải trình tự Sanger	TNF-α-SG-F	TCCCAGGCT TGTCCTGC TACC	22	63,6	463
	TNF-α-SG-R	CCCTGCACC TTCTGTCTC GGTTTCTT	26	53,8	



**Hình 4. Kết quả điện di gel agarose của PCR thử nghiệm test cặp đoạn mồi (A) và PCR 5 mẫu người tình nguyện (B)**

**Bảng 3** thể hiện kết quả giải trình tự Sanger vùng gen TNF-α quan tâm, **hình 5** mô tả các sóng tín hiệu điện di của kiểu gen GA.

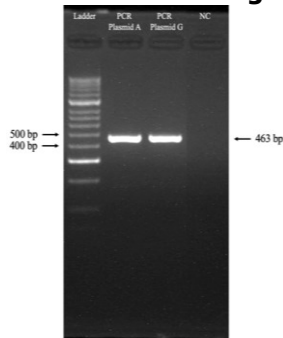


**Hình 5. Kết quả giải trình tự Sanger của kiểu gen GA**

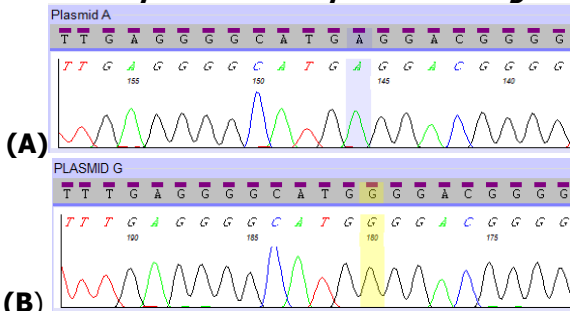
**Bảng 3. Kết quả giải trình tự Sanger 5 mẫu người tình nguyện**

Mẫu	Kiểu gen	%LOR so với chiều dài đoạn thiết kế	Vị trí SNP quan tâm có QV20+	Đánh giá
1	AA	95,03%	154	Đạt
2	GA	94,82%	155	Đạt
3	GG	94,60%	154	Đạt
4	GG	93,52%	147	Đạt
5	GG	91,36%	137	Đạt

**3.2. Bộ DNA plasmid chứng để khảo sát kiểu gen biến thể rs1800629 gen TNF-α**



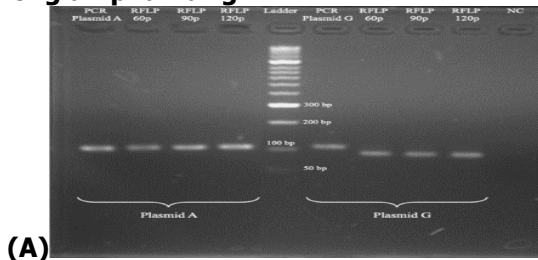
**Hình 6. Kết quả PCR xác định sự hiện diện của đoạn chèn của 2 plasmid chứng**



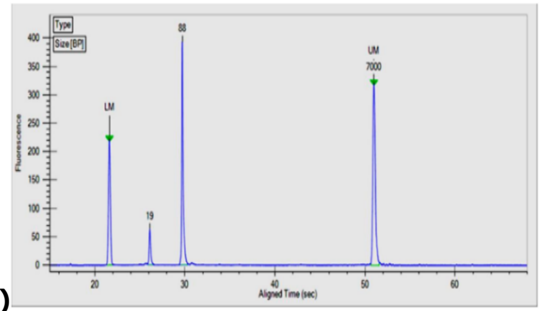
**Hình 7. Kết quả giải trình tự Sanger DNA plasmid mang alen A (A) và alen G (B)**

Kết quả giải trình tự (hình 7) cho thấy đã xây dựng thành công bộ DNA plasmid chứng mang alen G (wild-type) và mang alen A (biến thể rs1800629). Để giả lập kiểu gen dị hợp tử GA, hoà trộn plasmid wild-type và plasmid mang biến thể với tỉ lệ 1:1 về lượng.

**3.3. Tối ưu hoá nồng độ enzyme cắt và thời gian phản ứng RFLP**



(A)



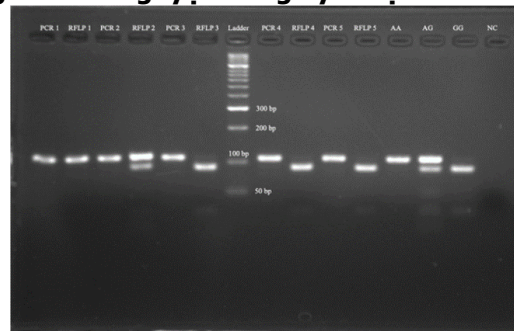
(B)

**Hình 8. Kết quả điện di gel agarose trong ba khoảng thời gian 60 phút, 90 phút và 120 phút (A) và kết quả điện di mao quản (B)**

Không có sự khác biệt về hiệu quả cắt của enzyme NcoI ở ba khoảng thời gian 60 phút, 90 phút và 120 phút của cả hai loại DNA plasmid mang alen A và alen G (Hình 8A). Plasmid mang alen A không bị phân cắt bởi enzyme NcoI, do đó, điện di sản phẩm phản ứng PCR-RFLP chỉ thấy một vạch tương đương với sản phẩm PCR ban đầu. Ngược lại, plasmid mang alen G được phân cắt hoàn toàn thành sản phẩm có kích thước nhỏ hơn so với sản phẩm PCR ban đầu (khoảng 87 bp) và sản phẩm có kích thước 20 bp không quan sát được trên trên gel agarose 2,5%. Do không có sự khác biệt về hiệu quả phản ứng RFLP giữa ba khoảng thời gian nêu trên, nhóm nghiên cứu lựa chọn thời gian 60 phút.

Dựa vào kết quả điện di mao quản, ghi nhận hai sản phẩm có kích thước 88 bp và 19 bp đối với mẫu có kiểu gen đồng hợp GG (Hình 8B), phù hợp với sai số cho phép ±10%. Kết quả điện di mao quản đã khẳng định sự hiện diện của đoạn sản phẩm 20 bp trong hỗn hợp sản phẩm cắt của plasmid mang alen G. Như vậy, enzyme NcoI thực hiện phản ứng cắt đặc hiệu tại vị trí mỗi thiết kế.

**3.4. Kiểu gen biến thể rs1800629 của người tình nguyện bằng kỹ thuật PCR-RFLP**



**Hình 9. Kết quả điện di gel agarose với thời gian ủ 60 phút**

PCR 1, PCR 2, PCR 3, PCR 4, PCR 5 là các mẫu sau phản ứng PCR

RFLP 1, RFLP 2, RFLP 3, RFLP 4, RFLP 5 là các sản phẩm sau khi cắt bằng enzyme NcoI lần lượt tương ứng với các mẫu PCR 1, PCR 2, PCR 3, PCR 4 và PCR 5.

**Bảng 4. Kiểu gen của 5 mẫu người tình nguyện**

Mẫu	1	2	3	4	5
Kết quả PCR-RFLP	AA	GA	GG	GG	GG
Kết quả Sanger	AA	GA	GG	GG	GG

Áp dụng quy trình phản ứng PCR-RFLP đã tối ưu hoá trên 5 mẫu người tình nguyện đã biết trước kiểu gen bằng phương pháp giải trình tự Sanger (**Bảng 3**) cho kết quả tại **hình 9**. Như vậy, kết quả xác định kiểu gen của cả 5 người tình nguyện bằng PCR-RFLP tương đồng 100% với giải trình tự Sanger (**Bảng 4**).

#### IV. BÀN LUẬN

Quy trình giải trình tự Sanger xác định biến thể là chuẩn mực trong thực hành. Độ tin cậy cao của quy trình mô tả bên trên được khẳng định bằng giá trị QVB của các nucleotit đọc được. Vị trí biến thể nằm ở khoảng giữa của amplicon tạo điều kiện cho việc đọc được biến thể bằng việc giải trình tự 2 chiều khi có nghi ngờ. Tuy vậy, với sự có sẵn của quy trình PCR-RFLP đã xây dựng, quy trình giải trình tự Sanger có thể được giới hạn phạm vi sử dụng ở hoạt động nội kiểm định kỳ tại cơ sở.

Quy trình xác định biến thể rs1800629 bằng PCR-RFLP được xây dựng dựa trên nghiên cứu công bố trước đó của Corrêa và cộng sự với mỗi xuôi khuếch đại vùng khởi động gen TNF- $\alpha$  mang một điểm sai khác "mismatch" nhằm tạo trình tự đặc biệt, làm điểm nhận diện đặc hiệu cho enzyme cắt NcoI so với trình tự DNA mạch khuôn[6]. Do việc điểm cắt giới hạn nằm trên đoạn mỗi tham gia phản ứng PCR, sản phẩm của phản ứng cắt là một đoạn rất ngắn nên khó quan sát được bằng kỹ thuật điện di trên gel agarose nhưng có thể được quan sát tốt bằng kỹ thuật điện di mao quản (**Hình 8B**). Từ đó khẳng định sự tồn tại của đoạn 20bp trong sản phẩm sau phản ứng cắt. Quy trình PCR-RFLP đã xây dựng cho phép xác định rõ sản phẩm cắt và không cắt với enzyme NcoI bằng kỹ thuật điện di trên gel agarose 2,5% nên việc thay thế hoàn toàn điện di trên gel agarose bằng điện di mao quản sẽ tốn nhiều chi phí, đòi hỏi thiết bị hiện đại nhưng không mang lại giá trị vượt trội, đồng thời chưa phù hợp với tình hình thực tế tại Việt Nam.

Kết quả phân tích kiểu gen biến thể rs1800629 thu được từ phương pháp PCR-RFLP so với "tiêu chuẩn vàng" là kỹ thuật giải trình tự

Sanger cho thấy độ tương đồng đạt 100%. Đồng thời, bằng việc xây dựng thành công bộ DNA plasmid chúng mang các alen của biến thể quan tâm để kiểm soát chất lượng xét nghiệm, nghiên cứu bước đầu cho thấy bằng chứng về chất lượng kết quả của quy trình xây dựng. Tuy nhiên, do những hạn chế về nguồn lực, nghiên cứu vẫn tồn tại những hạn chế nhất định. Nghiên cứu chỉ khảo sát tính độ chính xác của PCR-RFLP với cỡ mẫu còn khiêm tốn. Để tiếp tục đánh giá chất lượng quy trình đã xây dựng, nghiên cứu cần được tiếp tục triển khai trên cộng đồng với cỡ mẫu lớn hơn nhằm đánh giá đặc tính kỹ thuật của quy trình xây dựng như độ nhạy, độ đặc hiệu, độ xác thực kết quả. Thông qua đó, quy trình cần tiếp tục tham gia chương trình so sánh liên phòng hoặc ngoại kiểm để đánh giá mức độ tin cậy của quy trình đã xây dựng.

Kết quả nghiên cứu mang lại quy trình xác định biến thể rs1800629 trên vùng khởi động của gen TNF- $\alpha$  bằng kỹ thuật PCR-RFLP có thể khảo sát được số lượng mẫu lớn, tiết kiệm chi phí, thời gian nhanh chóng và độ tin cậy cao, bước đầu ứng dụng cho mô tả đặc điểm di truyền biến thể TNF- $\alpha$ -308G/A (rs1800629) của các bệnh lý liên quan đến tăng nồng độ TNF- $\alpha$  ở người Việt Nam.

#### V. KẾT LUẬN

Đã xây dựng được bộ công cụ chẩn đoán biến thể TNF- $\alpha$ -308G/A (rs1800629), bao gồm phương pháp giải trình tự Sanger và PCR-RFLP, có tính chính xác và kinh tế cao.

#### VI. KIẾN NGHỊ

Ứng dụng bộ công cụ này để thực hiện các nghiên cứu về tần suất và vai trò của biến thể rs1800629 trên quần thể người Việt Nam. Song song đó, so sánh kết quả của bộ công cụ này với kết quả được thực hiện bởi kỹ thuật và đơn vị khác trên một quần thể mẫu lớn hơn để xác nhận giá trị của cả phương pháp giải trình tự Sanger và PCR-RFLP.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Abraham, L.J. and K.M. Kroeger**, Impact of the -308 TNF promoter polymorphism on the transcriptional regulation of the TNF gene: relevance to disease. *J Leukoc Biol*, 1999. 66(4): p. 562-6.
2. **Xia, Z., et al.**, Association Between TNF-alpha-308, +489, -238 Polymorphism, and COPD Susceptibility: An Updated Meta-Analysis and Trial Sequential Analysis. *Front Genet*, 2021. 12: p. 772032.
3. **Sudershan, A., et al.**, Enlightening the association between TNF-alpha -308 G > A and migraine: a meta-analysis with meta-regression

- and trial sequential analysis. BMC Neurol, 2023. 23(1): p. 159.
4. Wang, B. and Y.L. He, Association of the TNF-alpha gene promoter polymorphisms at nucleotide -238 and -308 with acne susceptibility: a meta-analysis. Clin Exp Dermatol, 2019. 44(2): p. 176-183.
  5. Lee, Y.H., et al., Association between TNF-alpha promoter -308 A/G polymorphism and Alzheimer's disease: a meta-analysis. Neurol Sci, 2015. 36(6): p. 825-32.
  6. Corrêa, G.T., et al., Association of -308 TNF-alpha promoter polymorphism with clinical aggressiveness in patients with head and neck squamous cell carcinoma. Oral Oncol, 2011. 47(9): p. 888-94.

## KHẢO SÁT CÁC ĐẶC ĐIỂM DỊCH TỄ HỌC CỦA VIÊM MÀNG BỒ ĐÀO

Nguyễn Thị Uyên Duyên<sup>1</sup>, Nguyễn Lê Thành Đạt<sup>2</sup>, Võ Thị Hoàng Lan<sup>2</sup>,  
Đoàn Lương Hiền<sup>1</sup>, Trần Đình Minh Huy<sup>2</sup>, Đoàn Kim Thành<sup>3</sup>

### TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Xác định tỷ lệ nguyên nhân và các đặc điểm lâm sàng của viêm màng bồ đào ở người trưởng thành tại Bệnh Viện Mắt Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam. **Phương pháp:** Nghiên cứu cắt ngang mô tả được thực hiện tại khoa Dịch Kính Vồng Mạc từ tháng 12 năm 2022 đến tháng 5 năm 2023. Tất cả bệnh nhân được khám lâm sàng đầy đủ và thực hiện các xét nghiệm hỗ trợ liên quan. Dữ liệu được thu thập bao gồm: tuổi, giới tính, vị trí địa lý, đặc điểm lâm sàng, vị trí giải phẫu và nguyên nhân gây bệnh. **Kết quả:** 96 bệnh nhân thỏa tiêu chuẩn tham gia nghiên cứu. Tuổi trung bình là 41,64 ± 14,5 tuổi (dao động từ 19 đến 71 tuổi) với 61 nam (63,5%). Gần 2/3 bệnh nhân bị viêm màng bồ đào một bên mắt. Viêm màng bồ đào sau thường gặp nhất (43,7%), kế đến là viêm màng bồ đào trước (31,3%), viêm màng bồ đào toàn bộ (20,8%) và viêm màng bồ đào trung gian (4,2%). Tỷ lệ viêm màng bồ đào nhiễm trùng (47,9%) nhiều hơn không nhiễm trùng (33,3%) và vô căn (18,8%). Viêm vồng mạc do Cytomegalovirus (CMV) là nguyên nhân nhiễm trùng phổ biến nhất (34,8%), kế đến là Herpes Simplex Virus (HSV) (23,9%) và Lao (19,6%), trong khi đó ở nhóm nguyên nhân không nhiễm trùng, Vogt-Koyanagi-Harada (VKH) chiếm tỷ lệ cao nhất (31,2%), kế đến là hội chứng Posner-Schlossman (21,9%), và nhãn viêm giao cảm (12,5%). Phù hoàng điểm là biến chứng thường gặp nhất. **Kết luận:** Nghiên cứu cắt ngang ban đầu cho thấy viêm màng bồ đào ở người trưởng thành tại Thành Phố Hồ Chí Minh, Việt Nam. Viêm màng bồ đào nhiễm trùng thường gặp hơn không nhiễm trùng với ba tác nhân chiếm tỷ lệ cao nhất là CMV, HSV, Lao.

**Từ khóa:** Bệnh Vogt-Koyanagi-Harada, viêm vồng mạc do Cytomegalovirus, lao ở mắt, Viêm màng bồ đào nhiễm trùng.

<sup>1</sup>Bệnh viện Mắt Thành phố Hồ Chí Minh

<sup>2</sup>Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

<sup>3</sup>Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Uyên Duyên

Email: uyenduyenpy@yahoo.com

Ngày nhận bài: 22.11.2023

Ngày phản biện khoa học: 21.12.2023

Ngày duyệt bài: 23.01.2024

### SUMMARY

#### CROSS-SECTIONAL SURVEY ABOUT THE EPIDEMIOLOGY OF UVEITIS AT HO CHI MINH CITY EYE HOSPITAL, VIETNAM

**Purpose:** To identify the etiologies, and clinical manifestations of adulthood uveitis at a tertiary eye hospital in Ho Chi Minh City, Vietnam. **Method:** A cross-sectional survey was conducted at the Department of Retina and Vitreous, Ho Chi Minh City Eye Hospital, Vietnam between December 2022 to May 2023. The patients underwent a comprehensive ophthalmic examination and laboratory tests as per identical protocol. The main outcomes included: age, gender, geographic distribution, clinical manifestation, anatomical localisation, and etiology of the disease. **Result:** A total of 96 cases with uveitis diagnosis were included in the surveys. The mean age was 41,64 ± 14,5 years (ranged between 19 years and 71 years) with 61 males (63,5%). Approximately two out of three patients presented with unilateral involvement. Posterior uveitis was the most common (43,7%), followed by anterior uveitis (31,3%), panuveitis (20,8%), and intermediate uveitis (4,2%). The proportion of infectious uveitis (47,9%) was higher than noninfectious uveitis (33,3%) and idiopathic uveitis (18,8%). CMV retinitis was found to be positive in 34,8% of the infectious etiologies, followed by HSV (23,9%) and Tuberculosis (19,6%), while the most common etiologies in the non-infectious group were VKH disease (31,2%), Posner-Schlossman syndrome (21,9%), and sympathetic ophthalmia (12,5%). Macular edema was the complication most frequently identified all the cases. **Conclusion:** The cross-sectional survey preliminary advocated the posterior localisation to be the most common manifestation in adulthood uveitis in Ho Chi Minh City, Vietnam. Infectious uveitis was more frequently identified with the highest prevalence of CMV retinitis, Herpes Simplex, and Tuberculosis than non-infectious etiologies.

**Keywords:** VKH disease, CMV retinitis, ocular Tuberculosis, infectious uveitis.

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm màng bồ đào (VMBĐ) là một bệnh lý viêm tại mắt với tỷ lệ gây mù khoảng 25% ở các nước đang phát triển<sup>1</sup>, chủ yếu trong độ tuổi lao động.<sup>2</sup>