

GENE MUTATION CAUSING G6PD DEFICIENCY IN SOME ETHNICITIES IN THE NORTH OF VIETNAM

Nghiêm Thi Thanh Nga

Thanh Do University

Email: nttnga@thanhdouni.edu.vn

Received: 17/4/2023

Reviewed: 5/5/2023

Revised: 24/5/2023

Accepted: 28/5/2023

DOI: <https://doi.org/10.58902/tcnckhpt.v2i2.59>

Abstract:

G6PD is an enzyme that metabolizes the pentose pathway in order to create NADPH to keep glutathione in a reduced form to protect red blood cells from oxidizing agents such as oxygen, chemicals, drugs, and metabolites circulating in the blood... Deficiency of the enzyme G6PD is caused by a sudden mutation. genetic variation and is an X-linked recessive genetic disease. In the study, PCR-MPTP technique was used to identify the gene mutation causing G6PD deficiency in some people in some ethnic groups in the North of Vietnam.

Keywords: *G6PD; G6PD deficiency; Mutation; PCR-MPTP.*

1. Đặt vấn đề

Glucose-6-phosphat dehydrogenase (G6PD) là một enzym oxy hóa khử, đóng vai trò then chốt trong quá trình chuyển hóa glucose theo con đường hexose monophosphat trong hồng cầu. Con đường này tuy chỉ tạo ra năng lượng không đáng kể nhưng lại đảm bảo hai chức năng quan trọng là cung cấp ribose cho quá trình sinh tổng hợp acid nucleic và tạo ra NADPH, một chất khử vô cùng quan trọng. Trong hồng cầu người, chất này tham gia vào quá trình chống lại các tác nhân oxy hóa, loại bỏ H₂O₂, giúp bảo vệ màng hồng cầu được bền vững, bảo vệ cấu trúc hemoglobin, cấu trúc các enzym có trong hồng cầu để duy trì sự sống cho tế bào hồng cầu. Chính vì vậy, khi cơ thể thiếu hụt enzym này, hồng cầu sẽ bị phá hủy khi gặp tác nhân oxy hóa.

Thiếu hụt G6PD là bệnh lý enzym hồng cầu hay gặp nhất ở người, đặc biệt hay gặp ở những nhóm dân tộc sống trong vùng có bệnh sốt rét. Trên thế giới có khoảng hơn 400 triệu người mắc bệnh thiếu hụt G6PD. Cơ sở di truyền học của

bệnh thiếu hụt G6PD là do đột biến xảy ra trên gene mã hóa G6PD. Gene này nằm trên nhánh dài, vùng 2, băng 8 của nhiễm sắc thể giới tính X (Xq28), không có alen tương ứng trên nhiễm sắc thể Y nên gặp nhiều ở nam hơn ở nữ. Với sự phát triển của công nghệ sinh học, trình tự các exon hay toàn bộ trình tự của gene G6PD đã được xác định, đồng thời bằng các phương pháp như PCR, MPTP – PCR, giải trình tự... các đột biến mới của gene G6PD cũng liên tục được tìm ra. Năm 2016 trên thế giới có 217 đột biến trong gene G6PD được xác nhận trong đó có 31 đột biến là đột biến mới (Gómez Manzo, 2016). Nghiên cứu về phát hiện đột biến G6PD ở Việt Nam tuy đã được tiến hành trong những năm gần đây nhưng còn chưa nhiều và chưa hoàn chỉnh. Do đó, việc bổ sung các dữ liệu về tần suất thiếu hụt enzym G6PD và phát hiện đột biến mới là hết sức cần thiết. Chúng tôi tiến hành công trình nghiên cứu này nhằm mục tiêu phát hiện đột biến gene gây thiếu hụt G6PD ở một số dân tộc sinh sống tại vùng phía Bắc Việt Nam.

2. Tổng quan nghiên cứu

2.1. Trên thế giới

Trên thế giới có trên 400 triệu người bị thiếu hụt G6PD (Gómez Manzo, 2016) vì vậy việc phân tích và tìm kiếm các đột biến mới vẫn đang được nghiên cứu mở rộng và bổ sung. Municci và cộng sự (2012) thống kê các đột biến cũ và mới, cho thấy có đến 186 đột biến gene G6PD. Trong đó, 159 đột biến tìm thấy là đột biến điểm chiếm 85,4%, 15 (8%) đột biến thay thế 2 hay nhiều nucleotid, 10 (5,3%) đột biến xóa đoạn và 2 (1%) đột biến xảy ra trên intron.

Gómez Manzo và cộng sự (2016) cập nhật thêm 31 đột biến mới của enzym G6PD. Lúc này, số lượng đột biến G6PD được báo cáo là 217 đột biến, trong đó: 182 dạng đột biến (83,9%) là các thay thế nucleotid đơn, 19 dạng đột biến (8,7%) là nhiều đột biến (2 hoặc nhiều nucleotid thay thế), 11 dạng đột biến (5,1%) là xóa đoạn và 5 dạng đột biến (2,3%) là đột biến ảnh hưởng đến các intron. Các đột biến chủ yếu thuộc lớp 1 trên các exon 6,7,8,10 (Gómez-Manzo, 2016). Những dạng đột biến thuộc phân lớp này thường dẫn đến kiểu hình nghiêm trọng như: thiếu máu, tan máu, hồng cầu không hình cầu mạn tính, với hoạt tính enzym dưới 10% so với người bình thường. Vì vậy, việc xác định cá thể mắc bệnh thuộc phân lớp này thường dễ dàng hơn so với phân lớp khác. Các loại đột biến được tìm thấy thường có tính phân bố theo khu vực.

Ở Phương Đông người ta tìm thấy một số đột biến như: Gaohe, Chinese-4 ở Trung Quốc, Ube và Konan ở Nhật, Chinese-3 ở Philippin, Mahidol ở Đông Nam Á, Trung Quốc Đài Loan. Viangchan ở một số dân tộc di cư từ Ấn Độ, Lào và Philipin. Chatham ở Philipin. Canton ở Trung Quốc, Kaiping ở Lào, Trung Quốc. Union ở Lào, Trung Quốc và Nhật Bản (Hirono, 1993)

2.2. Ở Việt Nam

Trong số 54 nhóm dân tộc của Việt Nam, tình trạng thiếu hụt G6PD là tương đối phổ biến ở các dân tộc đã được điều tra (Nguyễn Thị Ngọc Dao, 2003). Các dạng đột biến thường gặp trong các nghiên cứu tại Việt Nam như:

Viangchan, Canton, Kaiping, Union thuộc lớp II; Gaohe, Chatham thuộc lớp III; Chinese - 5 chưa phân lớp. Các đột biến trên thuộc các exon 2, 9, 11, 12. Một đột biến khác dạng Silent cũng xuất hiện trên exon 11, 1311C>T bộ ba TAC→TAT cùng mã hóa cho Tyrosine nên không làm biến đổi thứ tự acid amin, đột biến này thường xuất hiện đồng thời cùng một số đột biến khác như Viangchan và Canton với tần suất tương đối cao Việt Nam cũng đã đóng góp vào cơ sở dữ liệu đột biến gene G6PD với các đột biến phát hiện gặp lần đầu tiên như G6PD Bao Loc (118 Tyr > His), Vietnam1 (3Glu > Lys), Vietnam2 (66Phe > Cys), Vietnam3 (73Ser > Ser) (Nguyễn Thị Ngọc Phương, 2003), (Đoạn Hạnh Nhân, 1999). Nghiên cứu tỷ lệ thiếu hụt G6PD trong hồng cầu một số dân tộc sống ở phía Bắc Việt Nam đã được Nguyễn Thị Thanh Nga và cộng sự (2022) tiến hành thông qua phương pháp formazan. Tuy nhiên, vẫn chưa có nghiên cứu cụ thể nào đi sâu nghiên cứu các dạng đột biến gene gây thiếu hụt G6PD đối với người dân sống ở phía Bắc Việt Nam.

3. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

3.1 Đối tượng

Đối tượng nghiên cứu là người bị thiếu hụt G6PD thuộc một số dân tộc (Kinh, Mường, Thái...) sinh sống ở phía Bắc Việt Nam.

3.2 Hóa chất

Các hóa chất được dùng trong thí nghiệm gồm: saccharose, tris base; MgCl₂, tritonX-100, proteinase K, α-D-glucose-6-phosphate sodium (G6PNa₂), nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP⁺), 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT), phenazin methosulphate (PMS)...

3.3 Phương pháp nghiên cứu

Đối tượng thiếu hụt G6PD phát hiện bằng kỹ thuật tạo vòng Formazan bán định lượng và kiểm tra mức độ thiếu hụt G6PD bằng kit (Roche). Lấy 0,5mL máu chống đông bằng EDTA 0,01M. Chiết tách DNA từ bạch cầu máu ngoại vi. Phân tích đột biến gene bằng phản ứng PCR-MPTP (multiplex PCR using Tadem Primer).

Bảng 1. Cặp mồi để câu exon 11 -12

Exon	Primer	Trình tự	Sản phẩm
11-12	F B11 R G3	5'-actccacatggtggcag 5'-aggaatgtgcagctgag	618 Primer

Nguyên tắc của MPTP dựa trên nguyên lý của PCR: bước 1 khuếch đại exon của gene G6PD; bước 2 phản ứng MPTP trên exon đã khuếch đại với nhiều primer (mồi) xuôi chiều nối đuôi nhau và 1 primer ngược thông thường, để khuếch đại từng đoạn khuôn. Dựa trên sản

phẩm khuếch đại tương ứng với các cặp mồi bình thường (Nset) hay đột biến (Mset) sẽ nhận biết được vị trí đột biến.

Sản phẩm được kiểm tra trên gel agarose 2%, maker 100bp, đọc trên máy UV.

Bảng 2. Các cặp mồi đột biến trên exon 11-12

Exon	Primer đặc hiệu DNA bình thường	Trình tự	Sản phẩm
11	11C	5'-tcctctcacagaac	128
	11-1311	5'-ctgacgcctacga	105
	11-1311M	5'-ctgacgccTacga	105
	11-1360	5'-cacttcgtgcgc	55
	11-1360M	5'- atgcacttcgtgTg	58
	11-R	5'-catagcccacaggt	Primer
12	12C	5'-ctatgtcccctcag	73
	12-1376	5'-acgagctccgtg	55
	12-1376M	5'-gacgagctccTtg	57
	12-1388	5'-aggcctggcgt	45
	12-1388M	5'- ggcttggcAtat	44
	12-R	5'-ccagctcaatctgg	Primer

Điện di sản phẩm trên gel agarose 4% điện thế ổn định 100V, trong 30 phút, sử dụng maker 50bp. Đọc kết quả trên máy soi tử ngoại (UV). Đối chiếu với maker để kiểm tra kết quả.

4. Kết quả nghiên cứu

4.1 Định lượng mức độ thiếu hụt enzyme G6PD

Tiến hành phương pháp định lượng theo kit của hãng Randox Carmencita (2003). Lựa chọn

ngẫu nhiên 30 đối tượng có mức độ thiếu hụt [++] và [+++] sau khi đã được sàng lọc bằng kỹ thuật bán định lượng Formazan (Bảng 3). Kết quả cho thấy giá trị hoạt độ G6PD trên các mẫu bình thường là 8,4 UI/gHb cao hơn trên các mẫu dương tính [++] là 50% (4,4 UI/gHb) và mẫu dương tính [+++] là 83% (1,5 UI/gHb) có ý nghĩa thống kê với p<0,05 và p<0,001.

Bảng 3. Hoạt độ G6PD của các đối tượng có kết quả âm tính và dương tính [++], [+++]

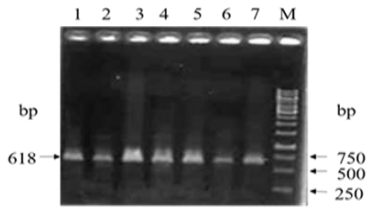
	Hoạt độ G6PD $\bar{X} \pm SD$ (UI/gHb)	Tỷ lệ %	p
Formazan âm tính (n=10)	8,4 ± 1,2	100	
Formazan dương tính [++] (n=10)	4,4 ± 0,8	50	<0,001
Formazan dương tính [+++] (n=20)	1,5 ± 0,53	17	<0,05

4.2. Xác định đột biến Silent trên exon 11-12

Tiến hành sàng lọc trên exon 11-12 ở những mẫu bệnh nhân thiếu hụt G6PD đối với 34 bệnh nhân thiếu hụt (++) và (+++). Sản phẩm PCR

lần thứ nhất được sử dụng làm khuôn PCR-MPTP. Kết quả điện di sản phẩm PCR lần 1 và PCR - MPTP lần 2 được trình bày trong Hình 1, Hình 2.

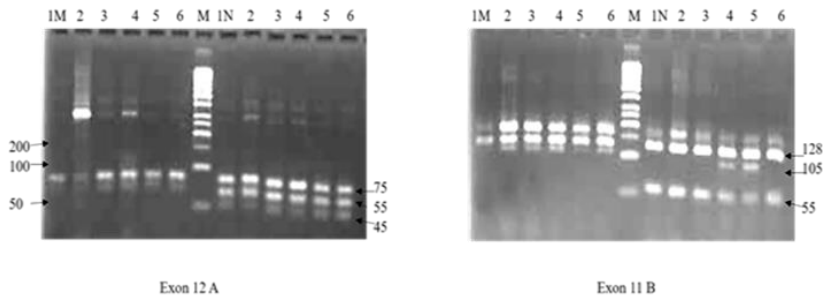
Hình 1. Kết quả điện di sản phẩm PCR trên exon 11-12 của những bệnh nhân thiếu hụt G6PD



(M: marker 250bp, mẫu 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7: sản phẩm PCR của exon 11-12 của bệnh nhân thiếu hụt G6PD)

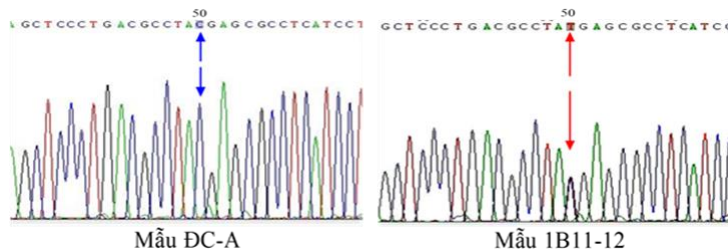
Sản phẩm thu được ở exon 11 và exon 12 có kích thước: 618bp. Sản phẩm PCR lần 1 của exon 11-12 được dùng làm khuôn để chạy phản ứng MPTP. Trong phản ứng MPTP của exon 12 và exon 11, chúng tôi dùng hai cặp mồi: các cặp mồi đột biến và các cặp mồi không đột biến. Theo hình 2, kết quả ở exon 12A cho thấy không

Hình 2. Kết quả điện di sản phẩm PCR-MPTP xuất hiện đột biến Silent trên exon 12(A) và exon 11 (B) ở các mẫu bệnh nhân thiếu hụt G6PD



(1M: Sử dụng các cặp mồi đột biến ở bảng 2 M.set; 1N: Sử dụng các cặp mồi không đột biến N.set ở bảng 2; M: marker 50bp; Giếng 2,3,4,5,6: sản phẩm PCR-MPTP của exon 11-12 ở các bệnh nhân thiếu hụt G6PD)

Hình 3. Kết quả đọc trình tự Exon 11-12 ở người thiếu hụt G6PD có đột biến Silent



Trình tự của đoạn gene trên exon 11 của mẫu (1B11-12) được xác định là có đột biến sau khi đọc trình tự. Tại vị trí nucleotid số 50 trên đoạn gene bình thường có đoạn trình tự: CCT.ACG.AGC (Hình 3) tương ứng trên mẫu gene có sự đột biến, có trình tự bị thay đổi 1

có mẫu nào đột biến ở exon 12. Kết quả ở exon 11B cho thấy với phản ứng Mset mẫu bình thường có 1 sản phẩm 128bp, với phản ứng Nset mẫu bình thường có 3 sản phẩm 55bp, 105bp và 128bp. Như vậy có 4 mẫu đột biến ở exon 11 do sự vắng mặt của băng 105bp. Đây là dạng đột biến Silent.

Kết quả đọc trình tự trên Exon 11-12 khi so sánh trình tự của đoạn gene trên exon 11 của 4 mẫu dương tính của người thiếu hụt G6PD: Những số liệu đã cho thấy khi so sánh với trình tự gene chuẩn của exon 11-12 trên ngân hàng gene có mã số NG009015, xuất hiện đột biến trên exon 11 của mẫu số 1B11-12; 3B11- 12; 4B11-12, còn mẫu 2B11-12 không thấy xuất hiện đột biến ở exon 11. Hình 3 là hình ảnh trình tự những đoạn gene bao gồm mẫu đối chứng và các mẫu đột biến trên exon 11.

nucleotid từ C→T đó là CCT.ATG.AGC (Hình 3), dẫn đến biến đổi acid amin từ Thr→Met. Đột biến được xác định là đột biến dạng Silent thuộc exon 11.

5. Bàn luận

PCR là một kỹ thuật phổ biến và không thể

thiếu trong các phòng thí nghiệm nghiên cứu y học và sinh học với nhiều ứng dụng khác nhau như nhân bản ADN để giải trình tự, nghiên cứu quá trình phát sinh chủng loại dựa trên bằng chứng về ADN, hoặc phân tích chức năng của gene; chẩn đoán các bệnh di truyền; xác định các dấu vân tay ADN (sử dụng trong khoa học pháp y và xác định quan hệ huyết thống); phát hiện và chẩn đoán các bệnh truyền nhiễm...Việc triển khai kỹ thuật này trong tìm kiếm đột biến gene cho bệnh thiếu hụt G6PD nói riêng và các bệnh đột biến gene nói chung là một hướng đi mới có ý nghĩa hết sức quan trọng và góp phần vào mức độ sinh học phân tử của nền y học nước nhà.

Gene G6PD có 13 exon, trong đó có exon 1 và một phần exon 2 không mã hóa. Nhiều công trình nghiên cứu trên thế giới đã báo cáo hầu như trong tất cả các exon còn lại đều có đột biến. Bằng kỹ thuật PCR, mỗi exon được khuếch đại với một cặp mồi đặc hiệu khác nhau. Kết quả phân tích tìm các dạng đột biến G6PD cho thấy ở mỗi vùng lãnh thổ cũng như ở mỗi dân tộc thường gặp những dạng đột biến khác nhau. Trong nghiên cứu này, việc sử dụng kỹ thuật PCR-MPTP bằng cách dùng sản phẩm của PCR lần 1 để chạy MPTP, dựa trên nguyên tắc các mồi xuôi phủ kín từng vùng của exon đích, kết hợp với mồi ngược bình thường tạo nên sản phẩm nối tiếp nhau, khi vắng mặt một trong các sản phẩm chúng ta có đột biến. Dựa trên trình tự nucleotid đã biết của exon và vị trí đột biến hay gặp trên exon, chúng tôi sử dụng các cặp mồi khuếch đại các đoạn exon bình thường- Nset (normal) và mồi khuếch đại cho vị trí đột biến – Mset (mutation). Chúng tôi tiến hành xác định đột biến trên 34 đối tượng của các một số dân tộc: Kinh, Mường, Thái, Hà Nhì, Gia Rai. Việc tiến hành xác định đột biến lần lượt trên exon 11,12 là những exon hay xảy ra đột biến ở các dân tộc thuộc vùng Đông Nam Á (Nguyễn Thị Ngọc Dao, 1997), (Đoàn Hạnh Nhân, 2003), Chúng tôi tìm thấy dạng đột biến câm Silent ở exon 11 và 12. Đây là dạng đột biến bởi nucleotid 1311 ở exon 11 C→T nhưng cả hai bộ ba TAC và TAT đều mã cho Tyrorin do vậy cấu

trúc bậc 1 của phân tử không bị thay đổi. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi về đột biến gene G6PD (đột biến silent) tuy nhiên đột biến này chiếm tỉ lệ cao không ở dân tộc thiểu số ở phía Bắc Việt Nam.

Trong những đột biến gây thiếu hụt G6PD, đột biến tại vị trí xa vùng gắn NADP⁺, hay xa vị trí gắn cơ chất G6P thường ít ảnh hưởng đến chức năng của enzym. Akira Hirono năm 1998 nhận xét rằng G6PD A (-), G6PD Qing Yuan và G6PD Ilesha là đột biến thay một acid amin, hoạt độ enzym giảm nhẹ hoặc bình thường, điều này gợi ý khu vực đột biến không nằm ở vùng chức năng quan trọng của enzym. Ngược lại thiếu hụt G6PD sẽ nghiêm trọng hơn nếu vùng đột biến tập trung gần vị trí gắn NADP hay vùng gắn cơ chất G6P. Trong nghiên cứu của Akira Hirono và cộng sự đã tìm thấy đột biến Vancouver. Đột biến này thay 3 nucleotid tương ứng acid amin 106, 182, 198 có nhiều thay đổi về đặc tính enzym (Gómez-Manzo, 2013).

6. Kết luận

Trong quá phân tích trình tự exon 11,12 chúng tôi đã phát hiện một đột biến Silent trên exon 11. Đây là dạng đột biến bởi nucleotid 1311 ở exon 11 C→T nhưng cả hai bộ ba TAC và TAT đều mã cho Tyrorin do vậy cấu trúc bậc 1 của phân tử không bị thay đổi.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi về đột biến gene G6PD cũng tương tự như các tác giả trong và ngoài nước tuy nhiên đột biến silent chiếm tỉ lệ không cao đối với người thuộc các dân tộc ở phía Bắc Việt Nam.

Các dạng đột biến Silent được tìm thấy trong nghiên cứu của chúng tôi đều nằm trong lớp 2 theo phân loại của WHO, đây là lớp gây thiếu hụt G6PD nặng. Hoạt độ G6PD của các mẫu thuộc một trong dạng đột biến đều rất thấp điều này có thể dẫn đến các thay đổi acid amin ở những vị trí có chức năng quan trọng trên phân tử enzym G6PD. Vì vậy, chức năng chính xác của các acid amin này cần được nghiên cứu thêm và cần nghiên cứu đột biến Silent với mối liên quan tới hóa sinh lâm sàng để đưa ra những biện pháp phòng ngừa các đợt tan máu có hiệu quả.

Tài liệu tham khảo

- Dao, N. T. N., An, V. T., Chinh, T. T., Giang, N. T., Tinh, T. T., Phuc, H. H., Nhan, D. H., Hinh, Q. X., Kaoru, N., Taku, S., Thuy, H. D. (2003). Phát hiện thiếu hụt G6PD và phân tích các dạng đột biến của nó ở một số trường hợp thuộc các dân tộc Kinh, Muong, Raclei và Tay ở Hà Nội, Hoà Bình, Khanh Hoà. *Tap chi nghiên cứu y học*, 23(3), 99-104.
- Gómez-Manzo, S. , Marcial-Quino, J. , Vanoye-Carlo, A. (2016). Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase: Update and Analysis of New Mutations around the World. *Int. J. Mol. Sci.*, 17(12), 2069.
- Hirono, A., Fujii, H., Miwa, S. (1998). An improved single- step screening method for G6PD deficiency. *Japanese journal tropical medical hyg*, 26(1), 1-4.
- Hirono, A., Miwa, S. (1993). Human G6PD: Structure and function of normal and variant enzyme. *Haematologia*, 25(2), 85-97.
- Hue, N. T., Charliou, J. P., Chau, T. T., Day, N., Farrar, J. J., Hien, T. T., Dunstan, S. J. (2003). Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) mutations and haemoglobinuria syndrome in the Vietnamese population. *Malar. J.*, 8, 152.
- Matsuoka, H., Thuan, D. T. V., Thien, H. V. (2007). Seven different glucose-6-phosphate dehydrogenase variants including a new variant distributed in Lam Dong Province in southern Vietnam. *Acta. Med. Okayama*, 61, 213-219.
- Nhan, D. H. (1999). Điều tra thiếu men G6PD hồng cầu ở một số dân tộc sống trong vùng sốt rét lưu hành tại miền Bắc Việt Nam. In *Báo cáo khoa học Hội nghị công nghệ sinh học toàn quốc* (pp. 203-209). essay, Hanoi: NXB Khoa học và Kỹ thuật.
- Phuong, N. T. N. (2002). Tam soát thiếu hụt G6PD ở trẻ sơ sinh tại bệnh viện Tu Du từ 15/3/2002 đến 15/4/2002. In *Hội nghị sang lọc sơ sinh toàn quốc 2002*. essay.
- Tinh, T. T. (1999). Thiếu men G6PD hồng cầu và đại huyết cầu to tại huyện Kim Bôi Hoà Bình. In *Báo cáo khoa học Hội nghị công nghệ sinh học toàn quốc* (pp. 210-215). essay, Hanoi: NXB Khoa học và Kỹ thuật.

DẠNG ĐỘT BIẾN GENE GÂY THIẾU HỤT G6PD CỦA MỘT SỐ DÂN TỘC Ở PHÍA BẮC VIỆT NAM

Nghiêm Thị Thanh Nga

Trường Đại học Thành Đô

Email: nttnga@thanhdowni.edu.vn

Ngày nhận bài: 17/4/2023

Ngày tác giả sửa: 24/5/2023

Ngày phản biện: 5/5/2023

Ngày duyệt đăng: 28/5/2023

DOI: <https://doi.org/10.58902/tcnckhpt.v2i2.59>

Tóm tắt:

G6PD là enzym chuyển hoá theo con đường pentose, tạo ra NADPH giữ cho glutathion ở dạng khử bảo vệ hồng cầu khỏi các tác nhân oxy hoá như oxygen, các hoá chất, các thuốc, các chất chuyển hoá của cơ thể lưu hành trong máu... Thiếu hụt enzyme G6PD có nguyên nhân do đột biến gen và là một bệnh di truyền gen lặn liên kết nhiễm sắc thể giới tính X. Nghiên cứu sử dụng kỹ thuật PCR-MPTP để xác định dạng đột biến gen gây thiếu hụt G6PD ở một số người ở một số dân tộc ở phía Bắc Việt Nam.

Từ khóa: G6PD; Thiếu hụt G6PD; Đột biến; PCR-MPTP.