2 bó. Kết quả cho thấy các bệnh nhân được mổ kỹ thuật 2 bó có nguy cơ đứt lại mảnh ghép thấp hơn các bệnh nhân được mổ kỹ thuật 1 bó.

V. KẾT LUẬN

Kết quả phẫu thuật nội soi tái tạo DCCT kỹ thuật một bó và hai bó tại bệnh viện 198 BCA, thời gian theo dõi tối thiểu 2 năm, nhóm phẫu thuật tái tạo 2 bó DCCT cho kết quả phục hồi độ vững của khớp gối và kết quả phục hồi mức độ hoạt động thể dục thể thao đánh giá theo thang điểm Cincinnati tốt hơn nhóm một bó, tỷ lệ đứt lại DCCT cao hơn ở nhóm tái tạo 1 bó sử dụng mảnh ghép có đường kính ≤7mm. Tuy nhiên, nghiên cứu cần thời gian theo dõi lâu hơn, cần thêm các phương tiện đánh giá khách quan độ vững của khớp gối, cần đánh giá thêm các yếu tố ảnh hưởng khác để cho những kết luận chính xác hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Nguyễn Xuân Thùy** (2014). Phẫu thuật nội soi khớp gối, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 111-116.
2. **K. Yasuda, C. F. van Eck, Y. Hoshino et al** (2011). Anatomic single- and double-bundle anterior cruciate ligament reconstruction, part 1: Basic science. Am J Sports Med, 39(8), 1789-99.
3. **Freddie H Fu, Carola F van Eck, Scott Tashman et al** (2015). Anatomic anterior cruciate ligament reconstruction: a changing paradigm. Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy, 23(3), 640-648.
4. **E. Svantesson, D. Sundemo, E. Hamrin Senorski et al** (2017). Double-bundle anterior cruciate ligament reconstruction is superior to single-bundle reconstruction in terms of revision frequency: a study of 22,460 patients from the Swedish National Knee Ligament Register. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 25(12), 3884-3891.
5. **Evan J Conte, Adam E Hyatt, Charles J Gatt et al** (2014). Hamstring autograft size can be predicted and is a potential risk factor for anterior cruciate ligament reconstruction failure. Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery, 30(7), 882-890.
6. **F. A. H. El-Sherief, W. A. Aldahshan, Y. E. Wahd et al** (2018). Double-bundle anterior cruciate ligament reconstruction is better than single-bundle reconstruction in terms of objective assessment but not in terms of subjective score. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 26(8), 2395-2400.
7. **M. Komzak, R. Hart, M. Feranec et al** (2018). In vivo knee rotational stability 2 years after double-bundle and anatomic single-bundle ACL reconstruction. Eur J Trauma Emerg Surg, 44(1), 105-111.
8. **R. A. Magnussen, J. T. Lawrence, R. L. West et al** (2012). Graft size and patient age are predictors of early revision after anterior cruciate ligament reconstruction with hamstring autograft. Arthroscopy, 28(4), 526-31.

NGHIÊN CỨU QUÁ TRÌNH PEROXY HOÁ LIPID TRONG MÔ DA BỊ LÃO HOÁ QUANG BẰNG PHƯƠNG PHÁP HÓA MÔ MIỄN DỊCH

Nguyễn Xuân Thành[1], Lê Tài Thế[1]

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá sự tác động của ánh sáng tới quá trình peroxy hóa lipid mô da ở các điều kiện khác nhau bằng phương pháp hóa mô miễn dịch (HMMD) với hai marker MDA VÀ 4-HNE. **Đối tượng và phương phá**p: Nghiên cứu trên 09 mẫu da ở các điều kiện bằng phương pháp thực nghiệm (TN) trên mô hình chiếu sáng (CS) gây lão hoá quang với cường độ 1200 lux và 2500 lux (bước sóng 450nm đến 760nm) trong 350 ngày. Nhuộm HMMD các mẫu da nghiên cứu và xác định 2 dấu ấn MDA và 4-HNE trước và sau chiếu sáng. Đánh giá mức độ bộc lộ theo phương pháp định lượng hình thái (DLHT) lập thể theo tỷ lệ thể tích dấu ấn/thể tích mô da. **Kết quả:** Sau 350 ngày thí nghiệm thấy mức độ bộc lộ 2 dấu ấn MDA và 4-HNE đều tăng lên đáng kể theo cường độ CS từ mức 1200 lux (MDA: 5,69%, 4-HNE: 6,13%) đến mức 2500 lux (MDA: 10,95%, 4-HNE: 10,59%) so với lô chứng không CS (MDA: 5,44%, 4-HNE: 5,18%). **Kết luận:** Quá trình peroxy hoá lipid trong mô da nhanh và mạnh mẽ hơn do tác động của ánh sáng. Hai marker MDA và 4-HNE tăng lên đáng kể ở mô da bị lão hoá quang. ***Từ khóa:*** lão hóa quang, peroxy hóa lipid, Malondialdehyd, 4-Hydroxynonenal.

[1]*Viện 69, Bộ Tư lệnh Bảo vệ Lăng*
Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Xuân Thành
Email: bsthelt07@gmail.com

Ngày nhận bài: 10.4.2024
Ngày phản biện khoa học: 16.5.2024
Ngày duyệt bài: 27.6.2024

SUMMARY

STUDYING THE LIPID PEROXIDATION PROCESS IN HUMAN SKIN TISSUE WITH PHOTO-AGED USING IMMUNOHISTOCHEMISTRY METHOD

Objective: Evaluate the impact of light on lipid peroxidation of skin tissue in various conditions by immunohistochemistry method with two markers MDA AND 4-HNE. **Materials and methods:** We studed 09 skin samples of human in various conditions by experimental methods and using lighting model aimed at causing photoaging with intensity from1200 lux 2500 lux (warelength from 450nm-760nm) for 350 days. Using immunohistochemical staining technique those skin samples and determinating of 2 markers

MDA and 4-HNE before and after illumination experiments. Evaluate the level of expression by quantitative stereoscopic method according to the ratio of marker volume/skin tissue volume on slide. **Results:** The expression level of 2 markers MDA and 4-HNE increased significantly according to the light exposure area from the range 1200 lux (MDA: 5,69%, 4-HNE: 6,13%) to the range 2500 lux (MDA: 10,95%, 4-HNE: 10,59%) compared to the control group that without illumination to them (MDA: 5,44%, 4-HNE: 5,18%) after 350 days. **Conclusion:** The process of lipid peroxidation in skin tissue occurs faster and more strongly with the impact of light. Both two markers MDA and 4-HNE increased significantly in photoaging skin tissue. ***Keywords:*** photoaging, lipid peroxidation, Malondialdehyd, 4-Hydroxynonenal.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Mô da là mô lớn nhất của cơ thể, chịu tác động cả yếu tố bên ngoài và bên trong. Kể cả với mô da đã được cố định cũng là một dạng polyme sinh học nên cũng chịu sự tác động của các yếu tố bên trong và bên ngoài. Nghiên cứu về biến đổi mô da ở các điều kiện khác nhau là vấn đề được đề cập từ lâu, nhất là lĩnh vực da liễu, dược lý, thẩm mỹ... và lão hoá da luôn là chủ đề được nghiên cứu rộng khắp. Các yếu tố như ánh sáng, nhiệt độ môi trường và các vi sinh vật được cho là tác động mạnh mẽ đến sự biến đổi cấu trúc hình thái mô. Tuy nhiên, các nghiên cứu cũng cho thấy rằng các phản ứng oxy hoá, stress oxy hoá là nhân tố có vai trò quan trọng thúc đẩy sự biến đổi ở mô. Quá trình stress oxy hoá diễn ra khi mất cân bằng giữa yếu tố gây oxy hoá và yếu tố chống lại, ngăn phản ứng oxy hoá. Khi quá trình stress oxy hoá kéo dài sẽ làm thay đổi hình dạng và cấu trúc mô. Các gốc oxy hóa tự do gây phá hủy các vật liệu sinh học thông qua quá trình oxi hóa các phân tử sinh học (protein, lipid, acid nucleic...) tạo các sản phẩm đặc trưng [1]. Các sản phẩm này tương tác với các phân tử khác trong vật liệu sinh học làm phá vỡ các liên kết từ đó biến đổi cấu trúc và chức năng [2], [3]. Để nghiên cứu phát hiện và đánh giá về các biến đổi trong mô sinh học, các nhà nghiên cứu sử dụng các chất chỉ thị sinh học, hay còn gọi là các marker sinh học. Đối với lipid, quá trình này gọi là peroxy hóa lipid, sản phẩm tạo ra là MDA (Malondialdehyd) và 4-HNE (4-hydroxynenonal) [4]. Đây là hai sản phẩm được coi là đại diện cho quá trình oxy hóa do các gốc tự do, bởi chúng được hình thành sớm, tồn tại lâu và có thể phát hiện bằng nhiều phương pháp [6].

Phương pháp (PP) để đánh giá, xác định các dấu ấn này thường sử dụng là PP hình thái và sinh hóa như hóa mô miễn dịch (HMMD), sắc ký phổ hấp thụ... Trong đó, PP bộc lộ bằng kỹ thuật nhuộm hoá mô miễn dịch tỏ ra ưu thế hơn hẳn do nó có thể phân tích định tính, định lượng và xác định sự phân bố của chúng trong cấu trúc mô. Việc sử dụng các kháng thể (KT) đơn dòng hoặc đa dòng giúp bộc lộ các kháng nguyên này trong tế bào và mô bằng phản ứng tại vị trí gắn kháng thể vào MDA/HNE-histidine (cys hay lys…) qua phản ứng DAB (3,3′-diaminobenzidine) tạo ra màu nâu, kết hợp với nhuộm tương phản màu xanh tím với hematoxylin [7].

Chính vì thế, chúng tôi tiến hành nghiên cứu quá trình peroxy hoá lipid ở mô da bị lão hoá bằng phương pháp hoá mô miễn dịch nhằm mục tiêu đánh giá sự bộc lộ 2 marker đặc trưng của quá trình peroxy hoá lipid là MDA và 4-HNE trong mô da ở điều kiện khác nhau dưới tác động của ánh sáng trong thời gian nghiên cứu.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu: 09 mô da đùi người có kích thước 4 x 6 cm từ các đối tượng nam giới bị tai nạn giao thông phải cắt cụt; mẫu được thu thập ngay sau khi cắt rời 2-4 giờ, bảo quản trong hộp đá lạnh đưa đến phòng TN.

2.2. Phương pháp nghiên cứu:

- Nghiên cứu thực nghiệm, tiến cứu, mô tả cắt ngang.

- Thiết kế nghiên cứu.

+ Thí nghiệm: Với 09 mẫu mô da tươi n1-n9, chia thành 3 lô đều nhau n1-n9 (mỗi mẫu cắt thành 3 phần kích thước bằng nhau), các mẫu sau đó được cố định bằng dung dịch có thành phần formalin ở 3 điều kiện như sau: 01 lô CS với bước sóng 450-760 nm, cường độ 1200 lux có lọc (lô 1); 01 lô CS với bước sóng 450-760nm, cường độ 2500 lux (lô 2) và 01 lô không CS (lô chứng). Thời gian TN trong 350 ngày.

Trong quá trình CS có bổ sung dung dịch cố định lên bề mặt da khoảng 2-3ml ml/lần/mẫu. Mỗi tuần bổ sung 2 lần, cách nhau 3 ngày.

+ Hệ thống đèn chiếu sáng thực nghiệm gồm các bóng đèn sợi đốt 50W, 120V có kính lọc GF-2 vùng tử ngoại và hồng ngoại. Thời gian CS 7200 giờ (tương đương 350 ngày) với hệ thống hẹn giờ tự động ở chế độ CS liên tục 3 giờ sau đó tắt 30 phút. Môi trường trong khu vực TN duy trì 20 -22^{0}C và độ ẩm 65-70%.

2.3. Kỹ thuật sử dụng

- Chuẩn bị tiêu bản nhuộm HMMD từ block đúc trong paraffin: Thực hiện đúc tất cả các mẫu da TN trong paraffin; Cắt lát dày 5µm; nhuộm thủ công sử dụng kháng thể đa dòng kháng MDA và 4-HNE: anti - MDA antibody (pha loãng 60 lần) và anti - HNE antibody pha sẵn của hãng Vistro, SA; bộc lộ kháng nguyên bằng Tris-EDTA

Buffer 10x pH 9 ở 100°C; phản ứng tạo màu bằng DAB; nhuộm tương phản với hematoxylin, có chứng âm. Bộc lộ hai dấu ấn MDA và 4-HNE tại các thời điểm ban đầu và sau giai đoạn TN; Mỗi mẫu da đúc 3 block và cắt 3 tiêu bản nhuộm HMMD; mỗi tiêu bản chụp 5 ảnh (x400) ở vị trí cách đều nhau theo chiều dài lớp biểu bì. Soi tiêu bản trên kính hiển vi quang học Olympus, chụp ảnh qua camera DX23 và phân tích ảnh trên phần mềm imageJ.

- Định lượng 2 dấu ấn MDA và 4-HNE này bằng phương pháp ĐLHT lập thể theo Avtadilov qua test điểm trên ảnh để tính tỷ lệ thể tích dấu ấn/thể tích biểu bì: Hệ thống test điểm Pp; phân tích ảnh bằng phần mềm ImageJ để đặt lưới chuẩn có pixel 2000 lên trên ảnh chụp tiêu bản. Tỷ lệ thể tích dấu ấn/thể tích mô da (Pp) được tính bằng số điểm rơi vào vùng bắt màu nâu (màu bộc lộ dấu ấn)/số điểm rơi vào biểu bì (Z) (minh họa ở hình 1) [8].

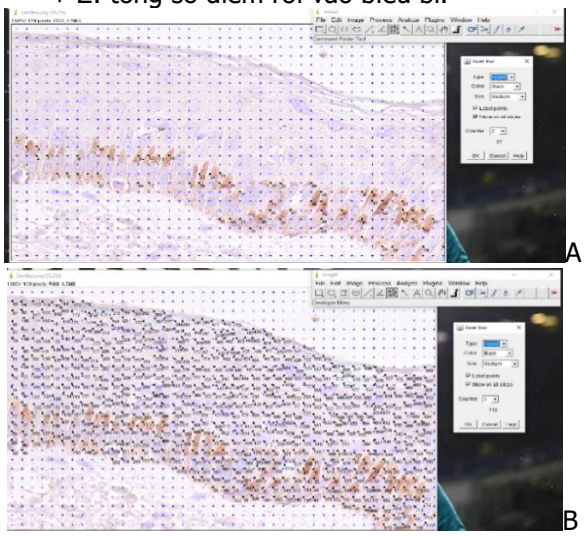
- Công thức tính sai số tuyệt đối như sau:

$$E = t * \sqrt{\frac{(Pp(100-Pp)}{Z}}$$

- *Trong đó:* + Lựa chọn t = 1,96 (p<0,05)

+ Pp: Tỉ lệ thể tích dấu ấn (MDA/4-HNE)/thể tích biểu bì

+ Z: tổng số điểm rơi vào biểu bì.



A

B

Hình 1: Hình sử dụng phương pháp test điểm trên phần mềm ImageJ Plus

(A-Số điểm rơi vào dấu ấn (67); B-Số điểm rơi vào biểu bì mô da (Z=716); Pp = 67/716 = 0,0936. Mức độ bộc lộ dấu ấn 4-HNE là 9,36%).

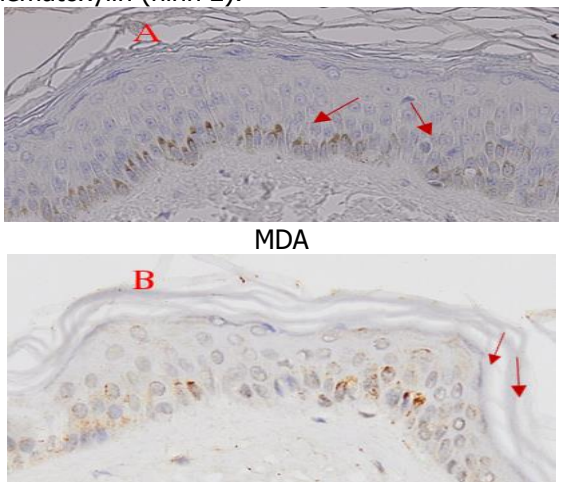
Sử dụng phương pháp ĐLHT để xác định mức độ bộc lộ các marker MDA và 4-HNE khi quan sát tiêu bản vi thể sẽ cho kết quả mức độ bộc lộ nồng độ MDA và 4-HNE một cách chính xác và khách quan Qua đây cũng có thể đánh gía mức độ peroxy hoá lipid trong mô da nghiên cứu.

2.4. Xử lý số liệu: Sử dụng thuật toán thống kê dựa trên giá trị mean ± SD. Kiểm chứng sự khác biệt giữa kết quả mức độ bộc lộ 2 dấu ấn giữa các lô nghiên cứu bằng Test Mann Whistney với p < 0,05.

Nội dung nghiên cúu đã được chấp thuận bởi Hội đồng chuyên môn của BTL 969 và sự hỗ trợ của Khoa GPB – Bệnh viện Việt Đức.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả mức độ bộc lộ dấu ấn MDA và 4-HNE ở mẫu mô da ban đầu. Trên tiêu bản nhuộm HMMD thấy cả hai dấu ấn đều bắt màu nâu, tập trung ở màng tế bào, tế bào chất phía cực trên và khoảng gian bào. Chúng được bộc lộ chủ yếu ở các tế bào lớp đáy, giảm dần ở lớp gai trong khi các lớp bên trên gần như không biểu hiện. Các mẫu da khác nhau trong mỗi lô lại có mức độ bộc lộ hai dấu ấn khác nhau. Ở tất cả các mẫu chứng âm chỉ thấy nhân bắt màu hematoxylin (hình 2).



MDA

4-HNE

Hình 2: Hình ảnh bộc lộ dấu ấn MDA (A) và 4-HNE (B) mô da ban đầu (mũi tên), x400

- Kết quả ĐLHT mức độ bộc lộ hai dấu ấn:

Mức độ bộc lộ hai dấu ấn cụ thể như trong bảng 1:

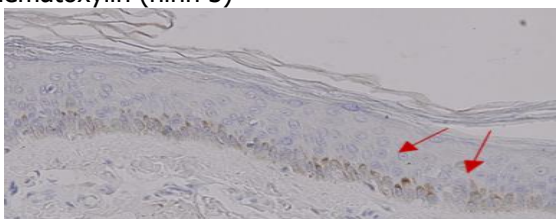
Bảng 1: Kết quả ĐLHT mức độ bộc lộ dấu ấn MDA và 4-HNE mẫu ban đầu

TT	Tên mẫu	Tỷ lệ thể tích dấu ấn/thể tích biểu bì da (%)	
		4-HNE	MDA
1	BĐ.01	4,98	4,55
2	BĐ.02	5,14	4,61
3	BĐ.03	4,79	4,23
4	BĐ.04	5,21	5,12
5	BĐ.05	5,4	5,07
6	BĐ.06	5,82	5,29

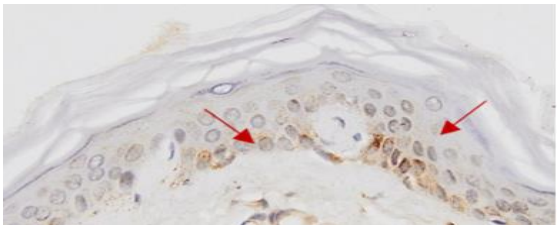
7	BĐ.07	6,04	5,02
8	BĐ.08	4,76	4,31
9	BĐ.09	4,5	4,3
Trung bình		5,18	4,72
SD		0,5	0,41
Sai số tuyệt đối		1,62	1,55

(BD: Mẫu ban đầu)

3.2. Kết quả mức độ bộc lộ MDA và 4-HNE ở nhóm mô da cố định. Trên tiêu bản nhuộm HMMD thấy cả hai dấu ấn bắt màu nâu, tập trung ở màng tế bào, tế bào chất phía cực trên và khoảng gian bào, bộc lộ chủ yếu ở các tế bào lớp đáy, giảm dần từ lớp gai, trong khi các lớp phía trên gần như không xuất hiện. Ở tất cả các mẫu chứng âm chỉ thấy nhân bắt màu hematoxylin (hình 3)



MDA



4-HNE

Hình 3: Hình ảnh bộc lộ MDA (A) và 4-HNE (B) nhóm được CĐ (mũi tên), x400.

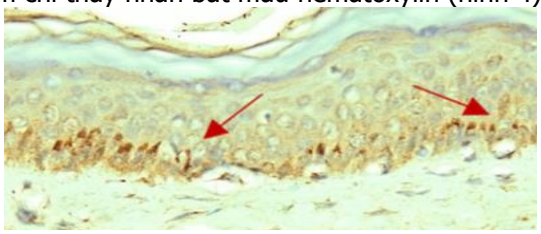
- Kết quả ĐLHT lập thể mức độ bộc lộ hai dấu ấn: Mức độ bộc lộ hai dấu ấn MDA và 4-HNE có trong bảng 2:

Bảng 2: Kết quả ĐLHT mức độ bộc lộ MDA và 4-HNE nhóm được cố định (CĐ)

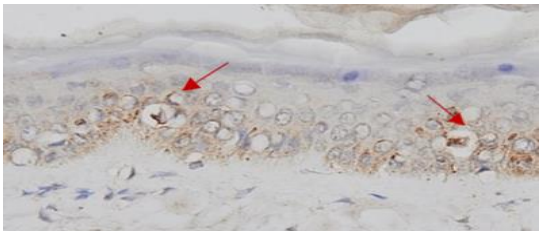
TT	Tên mẫu	Tỷ lệ thể tích dấu ấn/thể tích biểu bì da (%)	
		4-HNE	MDA
1	CĐ.01	4,82	4,71
2	CĐ.02	5,05	4,88
3	CĐ.03	4,47	4,51
4	CĐ.04	5,11	5,03
5	CĐ.05	4,92	5,16
6	CĐ.06	5,36	5,42
7	CĐ.07	5,72	4,89
8	CĐ.08	4,66	4,32
9	CĐ.09	4,7	4,57
Trung bình		4,98	4,83
SD		0,38	0,34
Sai số tuyệt đối		1,59	1,57

(CĐ: Mẫu được cố định)

3.3. Kết quả mức độ bộc lộ hai dấu ấn MDA và 4-HNE ở mẫu mô da nhóm chứng. Ở nhóm mô da không chiếu sáng, thấy cả hai dấu ấn bắt màu nâu, tập trung ở màng tế bào, tế bào chất phía cực trên và khoảng gian bào; khoảng gian bào ở lô này có xu hướng bộc lộ nhiều hơn so với các lô trước; thấy chủ yếu ở các tế bào lớp đáy, giảm dần từ lớp gai lên các lớp phía bên trên. Trong khi ở tất cả các mẫu chứng âm chỉ thấy nhân bắt màu hematoxylin (hình 4).



MDA



4-HNE

Hình 4: Hình ảnh bộc lộ MDA (A) và 4-HNE (B) nhóm chứng (mũi tên), x400

- Kết quả ĐLHT mức độ bộc lộ hai dấu ấn MDA và 4-HNE mô da nhóm chứng không chiếu sáng trong bảng 3:

Bảng 3: Kết quả ĐLHT mức độ bộc lộ dấu ấn MDA và 4-HNE nhóm chứng

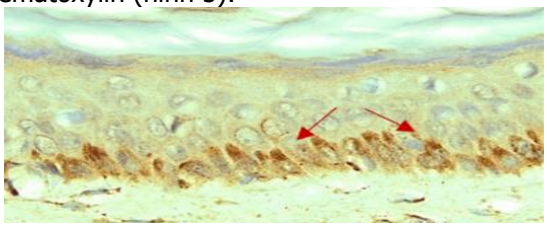
TT	Tên mẫu	Tỷ lệ thể tích dấu ấn/thể tích biểu bì da (%)	
		4-HNE	MDA
1	KC.01	5,98	5,41
2	KC.02	6,02	5,52
3	KC.03	4,77	4,96
4	KC.04	6,16	5,53
5	KC.05	6,33	5,81
6	KC.06	6,83	5,48
7	KC.07	6,9	5,82
8	KC.08	5,65	5,37
9	KC.09	5,56	5,11
Trung bình		6,02	5,44
SD		0,66	0,28
Sai số tuyệt đối		1,73	1,65

(KC: Khống chiếu sáng- Nhóm chứng)

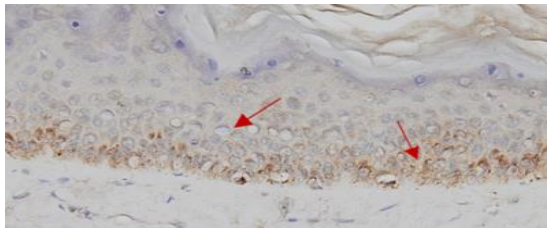
3.4. Kết quả mức độ bộc lộ hai dấu ấn MDA và 4-HNE ở lô 1 chiếu sáng 1200 lux

Nhuộm HMMD với hai kháng thể đa dòng anti-MDA và anti-4HNE thấy cả hai dấu ấn bắt màu nâu, tập trung ở màng tế bào, tế bào chất

phía cực trên và khoảng gian bào, trong đó hai dấu ấn xuất hiện ở khoảng gian bào trong mô có xu hướng nhiều hơn so với lô chứng. Chúng được bộc lộ nhiều ở các tế bào lớp đáy, giảm dần ở lớp gai và các lớp bên trên. Ở tất cả các mẫu chứng âm chỉ thấy nhân bắt màu hematoxylin (hình 5).



MDA



4-HNE

Hình 5: Nhuộm HMMD bộc lộ hai dấu ấn MDA (A) và 4-HNE (B) nhóm CS cường độ 1200 lux (mũi tên), x400

- Kết quả ĐLHT mức độ bộc lộ hai dấu ấn MDA (A) và 4-HNE (B) mô da nhóm CS 1200 lux bảng sau (bảng 4):

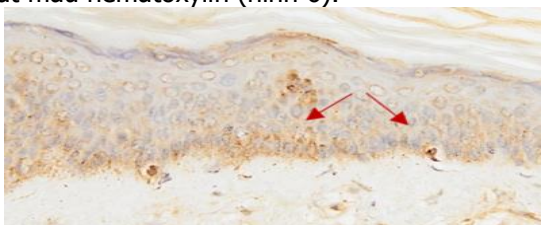
Bảng 4: Kết quả ĐLHT mức độ bộc lộ dấu ấn MDA và 4-HNE mô da lô 1 - CS 1200 lux

TT	Tên mẫu	Tỷ lệ thể tích dấu ấn/thể tích biểu bì da (%)	
		4-HNE	MDA
1	CL.01	6.08	5,51
2	CL.02	6.17	5,77
3	CL.03	5,47	5,43
4	CL.04	5,95	5,66
5	CL.05	6,32	6,12
6	CL.06	7,11	5,91
7	CL.07	6,86	5,87
8	CL.08	5,51	5,54
9	CL.09	5,66	5,42
Trung bình		6,13	5,69
SD		0,57	0,24
Sai số tuyệt đối		1,75	1,69

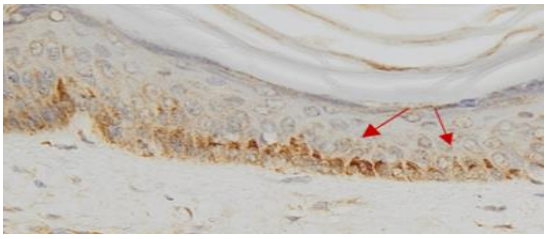
(CL: Chiếu sáng có lọc)

3.5. Kết quả mức độ bộc lộ hai dấu ấn MDA và 4-HNE ở lô 2 chiếu sáng 2500 lux

Trên tiêu bản nhuộm HMMD ở mô da sau chiếu sáng cường độ 2500 lux thấy cả hai dấu ấn bắt màu nâu, tập trung ở màng tế bào, tế bào chất và khoảng gian bào. Xuất hiện nhiều hơn ở các tế bào lớp đáy, giảm dần ở lớp gai và các lớp bên trên; tuy nhiên một số tiêu bản thấy hai dấu ấn biểu hiện tương đối đồng đều ở các lớp tế bào. Ở tất cả các mẫu chứng âm chỉ thấy nhân bắt màu hematoxylin (hình 6).



MDA



4-HNE

Hình 6. *Hình ảnh bộc lộ MDA (A) và 4-HNE (B) ở lô 2 có chiếu sáng 2500 lux (mũi tên), x 400*

- Kết quả ĐLHT lập thể mức độ bộc lộ MDA và 4-HNE ở lô 2 có chiếu sáng 2500 lux (bảng 5):

Bảng 5: Kết quả ĐLHT mức độ bộc lộ dấu ấn MDA và 4-HNE lô 2 chiếu sáng 2500 lux

TT	Tên mẫu	Tỷ lệ thể tích dấu ấn/thể tích biểu bì da (%)	
		4-HNE	MDA
1	KL.01	10,54	10,91
2	KL.02	10,71	11,02
3	KL.03	9,99	10,46
4	KL.04	10,62	11,03
5	KL.05	10,91	11,31
6	KL.06	11,43	10,98
7	KL.07	11,51	11,32
8	KL.08	9,83	10,87
9	KL.09	9,74	10,61
Trung bình		10,59	10,95
SD		0,64	0,28
Sai số tuyệt đối		2,24	2,28

3.6. So sánh sự khác nhau về mức độ bộc lộ hai dấu ấn MDA, 4-HNE giữa các lô nghiên cứu. Kiểm chứng sự sai khác về mức độ bộc lộ hai dấu ấn MDA, 4-HNE giữa các lô nghiên cứu sử dụng Test Mann Whistney với $p < 0,05$, ta được kết quả như sau:

Giữa nhóm mẫu ban đầu với nhóm không CS: Nhận thấy mức độ bộc lộ cả hai dấu ấn ở nhóm không CS tăng cao hơn so với ban đầu, có ý nghĩa thống kê (4-HNE: p=0,01732; MDA: p=0,0027).

Giữa nhóm không chiếu sáng với nhóm CS 1200 lux: Nhận thấy mức độ bộc lộ cả hai dấu

ấn ở nhóm CS 1200 lux tăng cao hơn so với nhóm không CS; tuy nhiên khác biệt không có ý nghĩa thống kê (4-HNE: p= 0,92828; MDA: p=0,07672).

Giữa nhóm không CS với nhóm CS 2500 lux: Nhận thấy mức độ bộc lộ cả hai dấu ấn ở nhóm CS 2500 lux tăng cao hơn so với nhóm không CS; khác biệt có ý nghĩa thống kê (4-HNE: p=0,00042; MDA: p=0,00042).

Giữa nhóm CS 1200 lux và nhóm CS 2500 lux: nhận thấy mức độ bộc lộ cả hai dấu ấn ở nhóm CS 2500 lux tăng cao hơn so với nhóm chiếu sáng 1200 lux; khác biệt có ý nghĩa thống kê (4-HNE: p=0,00042; MDA: p=0,00042).

IV. BÀN LUẬN

Ở lô ban đầu, mức độ bộc lộ MDA và 4-HNE ở các mẫu da lấy từ các đối tượng khác nhau là khác nhau. Điều này có thể do sự khác nhau về tuổi, giới tính, mức độ phơi nhiễm với ánh sáng mặt trời trước khi lấy mẫu hoặc bệnh lý mãn tính đi kèm; các mẫu da từ những người lớn tuổi hơn và tiếp xúc nhiều với ánh nắng hoặc có bệnh lý đi kèm như đái tháo đường hoặc bệnh thận mạn tính có mức độ bộc lộ 2 dấu ấn cao hơn so với người bình thường. Kết quả phù hợp với nghiên cứu của tác giả Kamelija Zarkovic và cộng sự (2023).

Cả hai dấu ấn đều bộc lộ chủ yếu ở màng tế bào và các tổ chức lân cận, tập trung chủ yếu ở các tế bào lớp đáy và giảm dần khi lên trên, do quá trình peroxy hóa lipid chủ yếu ở photpholipid màng tế bào và lớp đáy cũng là lớp có hoạt động sinh học mạnh nhất, đồng thời ty thể và các melanosome lớp này được cho là nhạy cảm với ánh sáng; ngoài ra do các sản phẩm aldehyd này có đặc tính lan rộng để tiếp tục phản ứng với các đại phân tử khác trong mô nên khi nhuộm HMMD ta thấy chúng còn xuất hiện ở tế bào chất và gian bào xung quanh màng. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu khác trên thế giới.

Đánh giá tác động của ánh sáng tới quá trình peroxy hóa lipid mô da qua mức độ bộc lộ hai dấu ấn ta thấy, cả hai dấu ấn đều tăng lên đáng kể so với nhóm ban đầu (nhóm không chiếu sáng/chiếu sáng có lọc/chiếu sáng không lọc: 4-HNE= 6,02/6,13/10,59 vs 5,18; MDA= 5,44/5,69/10,95 vs 4,72), như vậy ánh sáng đã xúc tác và thúc đẩy để các gốc tự do phản ứng stress oxy hóa mạnh hơn. Trong đó quá trình peroxy hóa lipid màng tế bào diễn ra mạnh và tạo ra nhiều sản phẩm aldehyd hơn; mặc dù nguồn sáng thí nghiệm là ánh sáng trong vùng nhìn thấy. Từ đó mà cấu trúc mô da cũng bị tổn thương nhiều hơn và các bệnh lý cũng có khả năng mắc nhiều hơn ở vùng ít tiếp xúc với ánh sáng, còn với mô đã ướp thì sự phá hủy cấu trúc cũng tiến triển nhanh hơn (theo Kamelija Zarkovic và cộng sự năm 2023). Đặc biệt ở điều kiện CS 2500 lux, mức độ bộc lộ hai dấu ấn tăng mạnh so với lô chứng và lô không CS.

Với các mẫu không được CS, chúng tôi thấy rằng sau 12 tháng nghiên cứu, nhóm mô da đã được cố định vẫn tăng mức độ bộc lộ hai dấu ấn hơn so với ban đầu, chứng tỏ quá trình peroxy hóa lipid vẫn diễn ra khi không được CS. Nguyên nhân có thể do trước khi lấy mẫu nghiên cứu, dưới tác động của yếu tố bên trong và bên ngoài (đặc biệt là tia UV ánh nắng mặt trời) hình thành các gốc tự do trong cơ thể, thúc đẩy quá trình stress oxy hóa khởi động; sau đó sinh ra các sản phẩm đặc trưng (trong đó có các aldehyd như MDA và 4-HNE). Các sản phẩm này lại đóng vai trò sản sinh các gốc tự do và tiếp tục thúc đẩy quá trình stress oxy hóa – đây cũng chính là đặc tính gây nguy hiểm nhất của chúng, khi gây hại cho mô, cơ thể ngay cả khi không có yếu tố bên ngoài tác động (theo Vladimirova Yu.A.). Cũng có thể giả thuyết rằng, quá trình lão hóa mô đã cố định vẫn diễn ra âm ỉ ở một mức độ nào đó và quá trình peroxy hóa lipid vẫn diễn ra trong mô đã cố định. Điều này cũng lý giải cho sự tích lũy các sản phẩm cuối cùng của peroxy hóa lipid trong mô, thi thể. Vấn đề này cần tiếp tục nghiên cứu kỹ lưỡng hơn.

V. KẾT LUẬN

Quá trình peroxy hóa lipid mô da diễn ra nhanh hơn và mạnh mẽ hơn khi da tiếp xúc thường xuyên với ánh sáng. Kể cả trong điều kiện thí nghiệm ánh sáng khả kiến. Các marker của quá trình oxy hóa lipid là MDA và 4-HNE tăng lên đáng kể trong mô da chiếu sáng. Kỹ thuật nhuộm HMMD kết hợp phương pháp ĐLHT giúp nghiên cứu đánh giá chính xác khách quan quá trình peroxid lipid trong mô da ở các điều kiện khác nhau.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Farage. A.M, Miller. W.K, Elsner. P, Maibach.I.H.** (2008). Intrinsic and extrinsic factors in skin ageing: a review. International Journal of Cosmetic Science;30:87-95.
2. **Sohal RS, Orr WC.** (2012). The redox stress hypothesis of aging. Free Radic Biol Med; 52(3): 539-55
3. **Farris PK, Valacchi G.** (2022). Ultraviolet Light Protection: Is It Really Enough? Antioxidants; 11(8)
4. **Ayala A, Munoz MF, Arguelles S.** (2014). Lipid peroxydation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyd and 4-hydroxy-2-nonenal. Oxid Med Cell Longev; 2014:360438.
5. **Shoeb M, Ansari NH, Srivastava SK, Ramana**

KV. (2014). 4-hydroxynonenal in the pathogenesis and progression of human diseases. Curr Med Chem; 21(2):230-7.
6. **Hermann E, Rudolf SJ, Helmward Z.** (1991).Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyd and related aldehyds. Free RadicalBiology& Medicin;11:81-128.
7. **Liou GY, Storz P.** (2015). Detecting reactive oxygen species by immunohistochemistry. Methods Mol Biol:1292:97-104.
8. **Howard, C.V. and Reed, M.G.** (2005). Unbiased Stereology: Three-Dimensional Measurement in Microscopy. 2nd Edition, Bios Scientific Publishers, Oxford.

ĐÁNH GIÁ TÌNH HÌNH SỬ DỤNG KHÁNG SINH TRONG ĐỢT CẤP BỆNH PHỔI TẮC NGHẼN MẠN TÍNH TẠI MỘT BỆNH VIỆN Ở KHU VỰC ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG NĂM 2022 – 2023

Nguyễn Thắng[1], Hoàng Phước Sang[2]

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Theo hướng dẫn chẩn đoán và điều trị BPTNMT năm 2018 của Bộ y tế cần chỉ định kháng sinh ở những bệnh nhân có đợt cấp BPTNMT mức độ trung bình hoặc nặng. Tuy nhiên sử dụng kháng sinh hợp lý là vấn đề cần được quan tâm trong tình hình đề kháng kháng sinh hiện nay. **Mục tiêu nghiên cứu:** Xác định đặc điểm sử dụng kháng sinh và tỷ lệ sử dụng kháng sinh hợp lý trong đợt cấp BPTNMT. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Mô tả cắt ngang trên 224 bệnh nhân điều trị nội trú mắc đợt cấp BPTNMT và được sử dụng kháng sinh tại một bệnh viện ở khu vực đồng bằng sông cửu long trong khoảng thời gian từ tháng 10/2022 đến 03/2023**. Kết quả:** Cephalosporin là nhóm kháng sinh được sử dụng nhiều nhất (47,9%), phác đồ sử dụng kháng sinh ban đầu chủ yếu là phối hợp (91,1%). Có 93,3% bệnh án có lựa chọn kháng sinh hợp lý, 72,8% bệnh án có kháng sinh sử dụng liều dùng hợp lý, 64,3% bệnh án sử dụng kháng sinh có tần suất hợp lý và 64,7% bệnh án không có tương tác thuốc của kháng sinh ở mức độ nghiêm trọng và tỷ lệ sử dụng kháng sinh hợp lý chung là 40,6%. **Kết luận:** Kết quả của nghiên cứu cung cấp một cách nhìn khách quan về sử dụng kháng sinh hợp lý trong đợt cấp BPTNMT ở góc độ Dược lâm sàng. Từ đó giúp sử dụng kháng sinh hợp lý, hiệu quả và an toàn hơn. ***Từ khóa:*** kháng sinh, đợt cấp bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính.

SUMMARY

STUDY ASSESSING THE SITUATION OF ANTIBIOTIC USE IN ACUTE EXACERBATIONS OF CHRONIC OBSTRUCTION PULMONARY DISEASE AT A HOSPITAL IN THE MEKONG DELTA IN 2022 - 2023

Background: According to the 2018 guideline for diagnosis and treatment of COPD of the Ministry of Health of Vietnam, antibiotics should be prescribed in patients with moderate or severe acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD). However, appropriate use of antibiotics is an issue that needs attention in the current situation of antibiotic resistance. **Objectives:** Determine the characteristics of antibiotic use and the rate of appropriate antibiotic use in AECOPD. **Materials and methods:** Cross-sectional of 224 inpatients with AECOPD and receiving antibiotics at a hospital in the Mekong Delta region during the period from 10/2022 to 03/2023. **Results:** Cephalosporin is the most commonly used antibiotic group (47.9%), the initial antibiotic regimen is mainly combination (91.1%). There are 93.3% of medical records with reasonable antibiotic choices, 72.8% of medical records with appropriate doses of antibiotics, 64.3% of medical records with reasonable frequency of antibiotics, 64,7% of medical records do not have serious antibiotic drug interactions and the overall rate of appropriate antibiotic use is 40.6%. **Conclusions:** The results of the study provide an objective perspective on the appropriate use of antibiotics in exacerbations of COPD from a clinical pharmacy perspective. This helps to use antibiotics more reasonably, effectively and safely.

Keywords: antibiotic, acute exacerbation chronic obstructive pulmonary disease.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đợt cấp là tình trạng nặng lên ở bệnh nhân mắc bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (BPTNMT). Một nghiên cứu tổng quan hệ thống cho thấy tỷ lệ nhiễm vi khuẩn ước tính trên bệnh nhân có đợt cấp BPTNMT là 49,59% [1]. Lợi ích của sử dụng kháng sinh ở những bệnh nhân này còn nhiều tranh cãi [2]. Theo hướng dẫn chẩn đoán và điều trị BPTNMT năm 2018 của Bộ y tế cần chỉ định kháng sinh ở những bệnh nhân có đợt cấp BPTNMT mức độ trung bình hoặc nặng theo Anthonisen. Tuy nhiên việc sử dụng kháng sinh không hợp lý dẫn đến tình trạng đề kháng kháng sinh trên toàn cầu là một mối đe dọa đối với sức khỏe và sự phát triển của toàn cầu [3].

Trên cơ sở đó, nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu: *Xác định đặc điểm sử dụng kháng*

[1]*Trường Đại học Y Dược Cần Thơ*
[2]*Trường Cao đẳng Cộng đồng Sóc Trăng*
Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thắng
Email: nthang@ctump.edu.vn
Ngày nhận bài: 11.4.2024
Ngày phản biện khoa học: 16.5.2024
Ngày duyệt bài: 27.6.2024